

Tartu Ülikool
Loodus- ja Tehnoloogiateaduskond
Ökoloogia ja Maateaduste Instituut
Mükoloogia õppetool

Mari Pent

**BAKTERITE MITMEKESISUS KANDSEENTE VILJAKEHADES JA SEDA
MÕJUTAVAD TEGURID**

Magistritöö

Juhendaja: teadur Kadri Põldmaa

Tartu 2015

Sisukord

1.	Sissejuhatus.....	4
1.1	Bakterid ja seened.....	4
1.2	Bakterite võimalikud ülesanded seotuna seentega.....	5
1.3	Bakterid seentes, seensümbioosides ja mükosfääris.....	7
1.3.1	Bakterid kandseente viljakehades.....	8
1.4	Seenebakterite uurimise tähtsus	9
1.5	Bakterikoosluste koosseisu mõjutavad tegurid	10
1.6	Käesoleva töö eesmärgid	13
2.	Materjal ja meetodika.....	14
2.1	Proovialad ja viljakehade kogumine.....	14
2.2	Bakterite eraldamine puhaskultuuri	15
2.2.1	Seeneproovide võtmine	15
2.2.2	Bakterite viimine kultuuri.....	16
2.3	DNA eraldamine	17
2.3.1	Kultuuritüved.....	17
2.3.2	Mass-sekveneerimine	17
2.4	Tööd DNA järjestustega.....	18
2.5	Andmeanalüüs.....	19
2.5.1	Kultuurist isoleeritud bakterid	19
2.5.2	Liidetud andmestik	20
2.6	Panus töösse	20
3.	Tulemused.....	21
3.1.	Puhaskultuuri eraldatud bakterid	21
3.1.1	Bakterite taksonoomiline jaotumine ja kultuuri viimise edukus.....	21
3.1.2	Bakterite taksonoomiline jaotumine seeneperekondades	24
3.1.3	Bakterite taksonoomiline jaotumine kasvukohatüüpides	28
3.1.4	Seente viljakehadest kultuuri eraldatud bakterite esinemist mõjutavad tegurid	29
3.2	Mass-sekveneerimisel tuvastatud bakterid	33
3.2.1	Mass-sekveneerimisel tuvastatud bakterite taksonoomiline jaotumine.....	33
3.2.2	Mass-sekvneerimisel tuvastatud bakterite jaotumine seeneperekondades.....	33
3.3	Bakterite mitmekesisus ja seda mõjutavad tegurid	36
3.3.1	Kultuuris kasvatatud ja mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteritaksonite võrdlus.....	36

3.3.2 Kultuuris kasvatatud ja mass-sekveneerimisel tuvastatud bakterite esinemist mõjutavad tegurid	39
4. Arutelu.....	40
4.1 Kahel erineval meetodil tuvastatud bakterikoosluste võrdlus	40
4.2 Kandseente viljakehade bakterikooslusi mõjutavad tegurid	42
4.3 Bakteritaksonite võrdlus varasemalt tuvastatud seenebakteritega	43
4.4 Tuvastatud bakteritaksonite omadused ja võimalikud funktsioonid.....	45
Kokkuvõte.....	48
Summary	50
Tänuavaldused	52
Kasutatud kirjandus.....	53
Lisad.....	68

1. Sissejuhatus

1.1 Bakterid ja seened

Taimede ja loomade rakkudes ning kudedes leiduvaid baktereid on uuritud üsna põhjalikult, samal ajal on aga seentes elavatele bakteritele pööratud tunduvalt vähem tähelepanu (Boddy jt 2008). Samuti ei ole baktereid kuigi palju uuritud ka keskkondades, mida seened otseselt mõjutavad ja sümbioosides, milles üheks osapooleks on mükobiont.

Siiski on juba praeguseks teada, et bakterid võivad seentega seotud olla kõigi erinevate arenguetappide vältel, nii eoste, seeneniidistiku, mükoriisa, kui ka viljakehadega (Bonfante jt 2009). Nimelt on baktereid leitud nii seeneeoste pinnalt, mükoriissetelt juurtelt, kui ka seente viljakehadest, sealjuures nii hüüfide sisemusest, kui hüüfide pinnalt. Seni on oluliste ja suuremate bakterirühmadena tuvastatud mükoriisa-abistaja bakterid, endobakterid ja mükofaagsed bakterid (Boer jt 2005).

Ka viljakeha ümbritsev kasvusubstraat ja selle bakterikooslus mõjutab oluliselt viljakeha arengut. Seda on leitud mitmete kultiveeritavate seentega läbiviidud uuringutest, näiteks austerserviku (*Pleurotus ostreatus*) (Cho jt 2003, 2008) ja aedšampinjoni (*Agaricus bisporus*) kasvusubstraadi mikroobikooslus indutseerib viljakeha arengut, kõrvaldades seene enda mütseeli poolt toodetud inhibeerivaid C8 ühendeid (Noble jt 2009).

Baktereid, kes on võimelised edendama mükoriisade, seahulgas nii arbuskulaarse mükoriisa, kui ka ektomükoriisa arengut ja nende seondumist taimejuurtega, nimetatakse mükoriisa-abistaja bakteriteks (Boer jt 2005). Mükoriisa-abistaja bakterid võivad koloniseerida nii hüüfide pinda, kui ka käituda endobakteritena (Frey-Klett jt 2007). Rääkides veel endobakteritest, siis neid on leitud ka näiteks kandseente hulka kuuluvate sinilamell-rupiku (*Laccaria bicolor*) ja austerserviku (*Pleurotus ostreatus*), mitmete arbuskulaarmükoriisete seente ja ka patogeenina tuntud perekonna *Rhizopus* rakkudest (Bertaux jt 2003, Frey-Klett 2007).

Bakterid võivad seent kasutada ka selleks, et omastada seenest toitaineid ja suurendada nende abil oma biomassi. Sel juhul on tegu bakteriaalse mükofaagiaga. Bakteriaalset mükofaagiat on kolme eri tüüpi: ekstratsellulaarne nekrotroofia, ekstratsellulaarne biotroofia ja endotsellulaarne biotroofia (Bonfante jt 2009).

Ühe võimalusena on välja pakutud, et bakterid võivad olla seeneniidistikuga seotud näiteks seetõttu, et seeneniidistik suudab efektiivsemalt mullas levida ja toitainerikkamaid piirkondi leida, kui bakterid ise, kelle liikumisvõime on piiratum (Boer jt 2005). Arvatavasti liiguvad bakterid piki seenehüüfide pindu vibureid kasutades (Grube jt 2009a).

Baktereid on leitud ka samblikest, kus nad on samuti tihedamalt seotud just mükobiondiga (Grube jt 2009a). Samblikest on baktereid isoleeritud nii talluse pinnalt, kui talluse sisemusest, rakkudest seni veel mitte (Liba jt 2006, Cardinale jt 2006). Paljudel juhtudel on tuvastatud bakteriperekonnad samad, mida on varasemalt isoleeritud ka seentest (Cardinale jt 2006).

1.2 Bakterite võimalikud ülesanded seotuna seentega

Üldiselt on leitud, et mükoriisa-abistaja bakterid võivad stimuleerida seente arengut ja soodustada mükoriisa moodustumist. Mükoriisa-abistaja bakterid edendavad mütseeli kasvu, suurendavad juure ja seene vahelist kontaktpinda ja kolonisatsiooni ning vähendavad ebasoodsate keskkonnatingimuste mõju mükoriisaseente mütseelile. Näiteks eose idanemine ja mütseeli kasv võivad suurenedada mükoriisa-abistaja bakterite mõjul ja seda tänu nende poolt toodetavatele kasvufaktoritele või antagonistlike ühendite detoksifitseerimisele, samuti konkurentide ja antagonistide inhibeerimisele (Frey-Klett jt 2007). Bakterid parandavad sageli ka orgaaniliste ühendite kättesaadavust mullast, kuna eritavad mitmeid happeid ja oksalaate, vabastades mullast orgaanilist süsinikku ja lämmastikku (Kumari jt 2013). Tõenäoliselt võivad ka endobakterid käituda nn. mükoriisa-abistaja bakteritena ja seda tingimustes, kus keskkonna- ja mullatingimused ei ole seene jaoks soodsad ning kui seen on parajasti presümbiootilises seisus ehk siis ei ole seotud taimega (Frey-Klett jt 2007). Endobakterid toodavad sageli vajalikke vitamiine ja kasvuregulaatoreid, nagu IAA (indool-3-atseethape), ja mõjutavad fosfaadi vabanemist ning suurendavad hüüfide kasvu ja mükoriisset kolonisatsiooni (Kumari jt 2013). Ka samblikest eraldatud bakteritel on tuvastatud sageli lüütiline aktiivsus, hormoonide tootmise ja fosfaadi vabastamise võime ning antagonistlik aktiivsus teiste mikroorganismide suhtes (Grube jt 2009a, 2009b).

Mitmed autorid on välja pakkunud, et üks oluline funktsioon, mida bakterid seentes ja nendega seotult täita võivad, on õhulämmastiku fikseerimine. Lämmastikufikseerijate bakterite oluliseks ülesandeks võib olla seente varustamine lämmastikuga just sel perioodil, kus lämmastiku kulud on suured, näiteks viljakeha moodustumise ja eoste tootmise perioodil. Samas lämmastikufikseerijatel kulub palju energiat lämmastiku sidumiseks ja kuna mükoriisaseened on võimelised mullast vabastama fosfaati ja lülitama seda ATP koosseisu, ning varustama baktereid ka energia tootmiseks vajalike süsivesinikega, siis võibki seente kasu bakteritele seisneda selles, et nad varustavad baktereid ATP kaudu energiaga (Li ja Castellano 1987, Li jt 1992).

Lämmastikufikseerijaid on leitud paljude seentega seotult. Näiteks on neid tuvastatud tuberkulaarse ektomükoriisa spetsiifiliste moodustiste, tuberkulide, sisemusest (Paul jt 2007). Lisaks on lämmastikuvaesel substraadil kasvavate saprotroofsete kandseente (*Fomitopsis pinicola*, *Fomes fomentarius* ja *Echinodontium tinctorium*) puhul samuti pakutud välja, et viljakeha moodustamiseks ja eoste tootmiseks vajaliku lämmastiku hulga sidumisele aitavad kaasa lämmastikufikseerijad bakterid (Larsen jt 1978). Näiteks on leitud ka austerserviku (*Pleurotus ostreatus*) kultuurist, et mitte seen ei seo lämmastikku, vaid seda teevad seene hüüfidel biofilmi moodustavad lämmastikufikseerijad bakterid. Kumbki osapool, ei seen ega bakter, ei ole üksi lämmastikufikseerimiseks võimeline. Samal ajal, kui bakterid saavad seenelt süsinikku, saab seen tõenäoliselt omakorda bakteritelt fikseeritud lämmastikku (Jayasinghearachchi ja Seneviratne 2004). Samuti on lämmastikufikseerijaid leitud kottseente *Tuber borchii* Vittad. ja *Tuber magnatum* Pico. viljakehadest. Oletatud on, et ka trühvlite viljakehade arengus ja küpsemises võib oluline roll olla just lämmastikku fikseerivate bakteritel (Barbieri jt 2005, 2007). Samblikes on mükobiondi ja fototroofsete lämmastikku fikseerivate tsüanobakterite vaheline sümbioos tuntud juba üsna pikka aega (Liba jt 2006).

Bakterid võivad lisaks saprotroofsete ja ektomükoriissete seente viljakehade tekke indutseerimisele osaleda ka viljakehade lagundamises (Grube jt 2009a). Kindlaks on tehtud, et suuremal osal liigi *Tuber borchii* viljakehade ja eostkottide seest tuvastatud bakteritel on võime lagundada kitiini. Seega võib nendel bakteritel olla oluline roll ka näiteks eostkoti avanemise protsessis ja eoste levimises (Citterio jt 2001). Lisaks võivad bakterid mõjutada ka eoste tootmist ja mõnel juhul, kas edendada või hoopis takistada

nende idanemist (Boer jt 2005). Leitud on veel, et bakterid võivad suurendada näiteks trühvli *Tuber borchii* mütseliaalset kasvu isegi lausa 78%, võrreldes nakatamata mütseeliga (Sbrana jt 2002). Lisaks toodavad trühvli viljakehadega seotud bakterid trühvli *Tuber borchii* sugulise arengufaasi vältel väävlit sisaldavaid volatiile, täpsemalt tiofeene. Need volatiilsed ühendid annavadki trühvlile iseloomuliku aroomi, mis muudab need atraktiivseks imetajatele ja seeläbi aitavad bakterid kaudselt kaasa ka eoste levimisele (Splivallo jt 2014).

Sageli võivad seentega seotud bakterid olla hoopis seente suhtes patogeensed. Näiteks üks tuntumaid haigustekitajaid paljudel majanduslikult väärtuslikel seeneliikidel, nagu aedšampinjonil (*Agaricus bisporus*), liigil *Agaricus bitorquis*, arušampinjonil (*Agaricus campestris*), austerservikul (*Pleurotus ostreatus*) ja kuningausterservikul (*Pleurotus erygii*), on bakteriliik *Pseudomonas tolaasii*. See bakteriliik toodab tolasiini, mis tekitab seentel pruunplekkhaigust (ingl. k. brown blotch disease) (Lee jt 2007). Samal ajal on aga tuvastatud ka bakteriliike, kes suudavad efektiivselt tolasiini detoksifitseerida ja seeläbi alla suruda pruunplekkhaiguse teket. Enamasti elavad need bakterid kinnitununa seenehüüfidel ja nendeks on näiteks *Mycetocola tolaasinivorans*, *Mycetocola lacteus* ja *Bacillus pumilus* (Tsukamoto jt 2002). Veel võivad bakterid indutseerida ka seente patogeensust taimede suhtes (Grube jt 2009a).

1.3 Bakterid seentes, seensümbioosides ja mükosfääris

Üks levinum bakteriperekond seoses seentega on γ -proteobakterite hulka kuuluv perekond *Pseudomonas*, mida on tuvastatud mitmest trühvliliigist, nagu *Tuber borchii* (Sbrana jt 2002) ja *Tuber magnatum* (Barbieri jt 2007). Näiteks on tuvastatud, et liigi *Tuber borchii* viljakeha sisemuses on bakter *Pseudomonas fluorescens* olemas kogu küpsemisperioodi vältel (Citterio jt 2001). Ka ektomükoriisade nii sisemisest, kui välimisest osast on leitud perekonna *Pseudomonas* liike. Näiteks edendab perekond *Pseudomonas* seeneperekondade rupik (*Laccaria*) ja juurepähkel (*Rhizopogon*) mükoriisset kasvu (Sbrana jt 2002).

Lisaks on mitmetes uurimustes tuvastatud aktinomütseetide ja spoore moodustavate bakterite olemasolu. Seda näiteks liigi *Tuber borchii* mütseeli kasvu edendavate bakterite hulgas ja ka ektomükoriisadega seotult (Sbrana jt 2002). Aktinomütseetidest on

perekonda *Streptomyces* leitud männiheiniku (*Tricholoma matsutake*) viljakeha alusest ja viljakeha ümbritsevast mullast (Kataoka jt 2012). Endospore moodustavatest bakteritest on leitud bakteriperekonda *Bacillus*. See perekond on esindatud seeneperekondade rupik (*Laccaria*) ja juurepähkel (*Rhizopogon*) mükoriisades (Sbrana jt 2002), männiheiniku (*Tricholoma matsutake*) viljakeha aluses ja ümbritsevas mullas (Kataoka jt 2012) ja ka samblikes (Grube jt 2009b). Lisaks on sugukond *Bacillaceae* esindatud ka trühvli *Tuber borchii* viljakehas (Citterio jt 2001). Perekond *Paenibacillus* on samuti võimeline moodustama endospore ja seda perekonda on tuvastatud samuti ektomükoriisast. Näiteks on liiki *Paenibacillus amylolyticus* leitud *Pinus contorta* var. *latifolia* ja seene *Suillus tomentosus* vahel moodustunud tuberkulaarse ektomükoriisa tuberkulide sisemusest (Paul jt 2007) ja tihti esineb seda bakteriliiki ka samblikes (Grube jt 2009a).

Ka perekond *Burkholderia* on seentega seotult üsna tavaline, näiteks ektomükoriisades (Sbrana jt 2002) ja seene viljakeha alla ja lähiümbrusesse jäävas mullas (Kataoka jt 2012) ning ka samblikes (Grube jt 2009b). Ektomükoriisadest on leitud veel näiteks liike *Agrobacterium tumefaciens* (Sbrana jt 2002) ja *Methylobacterium mesophilicum* (Paul jt 2007). Perekonda *Methylobacterium* on tuvastatud ka samblikest (Grube jt 2009b).

Sageli on seentega seoses tuvastatud ka lämmastikufikseerijaid bakteriperekondi. Näiteks on molekulaarseid meetodeid kasutades leitud, et kõige suuremal hulgal on trühvlites esindajaid α -proteobakterite hulgast, täpsemalt perekondade *Sinorhizobium*, *Rhizobium* ja *Bradyrhizobium* liike (Barbieri jt 2005, 2007). Leitud on ka, et perekonna *Bradyrhizobium* liigid võivad edukalt koloniseerida mitmete mullaseente, nagu *Aspergillus*, *Penicillium* ja *Mucor*, hüüfide pindu (Seneviratne ja Jayasinghearachchi 2003). Peale lämmastikufikseerijate on mullaseente hüüfidelt tuvastatud ka üks vähemtuntud bakteriperekond, perekond *Collimonas* ja liik *Collimonas fungivorans*, kes tänu kitinolüütilisele aktiivsusele on võimeline asustama elavaid seenehüüfe (Boer jt 2004).

1.3.1 Bakterid kandseente viljakehades

Viljakehad, mis võivad olla nii lühema, kui pikema elueaga ja on enamasti süsivesinike rikkad, on bakteritele spetsiifiliseks elupaigaks (Grube jt 2009a). Kuna käesolev töö käsitleb kandseente viljakehadest pärinevaid baktereid ja bakterikooslusi, siis tuleb sellest alljärgnevalt eraldi juttu.

Rääkides ektomükoriisestest kandseentest tuvastatud bakteritest, siis üldiselt on domineerivad gram-negatiivsed pulgad, kui välja arvata ametüstrupik (*Laccaria amethystina*), millest on leitud peamiselt gram-positiivseid kokke. Kokkoidseid baktereid on suurel hulgal isoleeritud ka pizarhebeli (*Hebeloma crustuliniforme*) ja kuldtatiku (*Suillus grevillei*) viljakehadest. Ka gram-positiivseid spoore moodustavaid aeroobseid batsillide ja gram-varieeruvaid pleomorfseid baktereid on viljakehadest leitud (Dahm jt 2005).

Üks tavalisemaid perekondi on taaskord perekond *Pseudomonas*, mida on leitud kuldtatiku (*Suillus grevillei*) viljakehadest ja mükoriisast. Ka kukeseenest (*Cantharellus cibarius*) on tuvastatud domineeriva bakterina liik *Pseudomonas fluorescens*, kes hõlmas ümbritsevas mullas 12% kogu bakterikooslusest ja viljakeha sisemuses lausa 78% (Dahm jt 2005). Lisaks on eelnimetatud perekonna liike leitud mitmete kultiveeritavate seeneliikide, nagu aedšampinjoni (*Agaricus bisporus*), šitake (Lentinula edodes) ja austerserviku (*Pleurotus ostreatus*), viljakehadest (Reyes jt 2004).

Mitmete kandseente viljakehadest, nagu liikidest *Suillus ponderosa*, *Hymenogaster parksii*, *Hebeloma crustuliniforme*, lakkrupik (*Laccaria laccata*) ja *Rhizopogon vinicolor*, on leitud atsetüleeni redutseerivat bakteriperekonda *Azospirillum* (Dahm jt 2005). Kuldtatiku (*Suillus grevillei*) viljakehadest ja ka mükoriisast on veel isoleeritud bakteriperekondi *Bacillus* ja *Streptomyces* (Dahm jt 2005). Kumari jt (2013) hiljutises töös on näidatud, et kukeseenes (*Cantharellus cibarius*) domineerivad hoopis sugukonna *Enterobacteriaceae* esindajad.

1.4 Seenebakterite uurimise tähtsus

Seentega seotud bakteripopulatsiooni uurimise majanduslik tähtsus seisneb eelkõige selles, et bakteripopulatsioon võib olla määrava tähtsusega seente eduka kultivatsiooni seisukohalt, aga ka põllumajanduses võib olla palju kasu mükoriisa tekkele kaasa aitavatest bakteritest (Boer jt 2005). Näiteks männiheini (*Tricholoma matsutake*) seni edutu kultiveerimine võib olla tingitud just sellest, et ümbritseva bakterikoosluse mõjust on veel liiga vähe teadmisi (Kataoka jt 2012). Trühvli *Tuber magnatum* puhul on juba arvatud, et lämmastikufikseerijate bakterite poolt parandatud toitainete kättesaadavus võib omada kasulikku efekti nii viljakehade tekkele, kui arengule (Barbieri jt 2010).

Bakterite kasu taimedele ei pruugi seisneda ainult mükoriisa tekke soodustamises, vaid nad võivad taimedele kasulikud olla veel ka teistel viisidel. Kui taimedes endofüütidena elavad seened moodustavad biofilmi teatud bakteritega, võib see taimi kaitsta mitmete haigustekitajate eest ja parandada taimede kasvu, mõjutades kasvuhormoonide, näiteks indool-3-atseethappe, hulka (Bandara jt 2006). Bakteritel on ka mitmeid strateegiaid võitlemaks seentega, näiteks toodavad nad sageli mitmeid inhibitoorseid ühendeid, nagu antibiootikumid, lüütilised ensüümid ja volaatilid. Seetõttu võib seentega seotud bakterite uurimisel olla potentsiaali ka biokontrolli seisukohalt, sest leitud bakteritel võib olla antifungiaalseid omadusi näiteks mõningate taimepatogeenide suhtes (Boer jt 2005).

1.5 Bakterikoosluste koosseisu mõjutavad tegurid

Sbrana jt (2002) töös on väidetud, et bakterite liigiline koosseis mullas varieerub oluliselt sõltuvalt mullatüübist ja antud kasvukohatüübist levinud taimeliikidest. Kontinentaalse uuringu põhjal leiti, et mulla bakterikoosluse liigirikkust ja mitmekesisust mõjutavad mullatingimused ja kõige suurem mõju on mulla pH-l. Sõltuvalt sellest on bakterite mitmekesisus suurim neutraalse pH-ga muldadel ja väikseim happelistel muldadel. Samal ajal lokaalsel tasandil võib mikroobikooslust mõjutada ka vegetatsioonitüüp, süsiniku kättesaadavus, toitainete kättesaadavus ja mullaniiskus. Kindlaks on tehtud, et muldades, mille tingimused on sarnased, on ka sarnane bakterikooslus ja seda sõltumata geograafilisest vahemaast (Fierer jt 2006). Seda, et millised tegurid võiksid seentega seotud elupaikades bakterikooslust kõige rohkem mõjutada, ei ole seni veel lõplikult suudetud välja selgitada, kuigi pakutud on erinevaid variante. Näiteks kukeseenest leiduv bakteripopulatsioon võib olla tugevalt mõjutatud nii peremehe, kui ka keskkonna poolt (Kumari jt 2013). Üldiselt on seentes esineva bakterikoosluse kohta sama väitnud ka Dahm jt (2005) oma töös. Samas on ka viiteid sellele, et mõned bakteriisolaadid on kõrge seenespetsiifilisusega liigisisel tasandil (Dahm jt 2005). Bakterid, kes seente viljakehi ja ümbritsevat mikroelupaika asustavad on tõenäoliselt enamasti pärit siiski ümbritsevast mullast. Näiteks trühvli viljakehadega seotud bakterite puhul on ka kindlaks tehtud, et nad on välja valitud just mulla bakterikooslusest viljakeha varase arengustaadiumi vältel. Faktorid, mis seda selektsiooni mõjutada võivad, on praegu veel teadmata (Splivallo jt 2014). Seega mulla mikroobikooslus on nn. lähtekoosluseks ja ümbritsev keskkond mõjutab tõenäoliselt ka viljakehade sees leiduvat mikroobikooslust.

Ektomükoriisast tuvastatud bakterite, nagu perekonna *Methylocella* ja liigi *Methylocapsa acidiphila* puhul on leitud, et nende olemasolu võib olla mõjutatud ümbritsevate mullatingimuste poolt (Izumi jt 2006). Mükorisosfääris on leitud, et olulist mõju mikroobikooslusele avaldavad ka kindlate taimeliikide juured (Sbrana jt 2002). Samas on ka arvamusi, et mükoriisa-abistaja baktereid mõjutavatest teguritest on kõige olulisem seenkomponent ja selle olemasolu, mitte niivõrd taime juured (Frey-Klett jt 2007, Bonfante jt 2009). Näite mükoriisa-abistaja bakteri spetsiifikast teatud seeneliikide suhtes võib tuua lähtudes bakteritüvest *Streptomyces* AcH 505, kes edendab küll punase kärbseseene (*Amanita muscaria*) ja lehmatatiku (*Suillus bovinus*) kasvu, samal ajal aga inhibeerib seene *Hebeloma cylindrosporum* kasvu (Frey-Klett jt 2007). Ka Poole jt (2001) on leidnud, et erinevates ektomükoriisatüüpides on ektomükorisosfääri asustav bakterikooslus varieeruv ja pakkunud samuti, et see võib olla tingitud ektomükoriisat moodustava seene liigist.

Leitud on, et bakterite populatsiooni arvukus seene *Tuber borchii* viljakehas väheneb märkimisväärselt viljakeha vananemise käigus. See näitab, et viljakeha võib mõjutada bakteriaalse kasvu dünaamikat ja seda tõenäoliselt läbi biokeemiliste protsesside, mis viljakeha lagunemise käigus toimuvad. Näiteks leiab viljakeha lagunemise käigus aset pH muutus, mis võib muuta tingimused viljakeha sees äärmiselt selektiivseks (Citterio jt 2001). Samas ei pruugi see kindlasti muuta ainult bakterite arvukust, vaid mõjutada ka bakterikoosluse mitmekesisust.

Kui tuua paralleel taimedega seotud bakterikooslust mõjutavate tegurite kohta, siis leitud on, et peremeestaim ise on üks peamisi mõjufaktoreid, mis mõjutab mikroobikoosluse liigilist koosseisu (Peng jt 2013). Seega ei ole siin suuremat osatähtsust omistatud näiteks ümbritsevale keskkonnale või mullatingimustele, vaid otseselt peremeesorganismile.

Leitud on ka, et seeneliigid võivad ise mõjutada bakteripopulatsiooni enda ümber, näiteks männiheinik (*Tricholoma matsutake*) inhibeerib tugevalt mitmeid aeroobseid ja heterotroofseid baktereid ning aktinomütseete. Samas suudavad bakteriperekonnad *Sphingomonas* ja *Acidobacterium* selles seene poolt tekitatud aktiivses mükoriisses tsoonis elada (Kataoka jt 2012). Ka Warmink jt (2009) näitasid oma töös, et kandseente viljakehad mõjutavad oma lähiümbruse ehk mükosfääri mikroobikooslust. Näiteks

perekonna *Pseudomonas* mitmekesisus koosluses kasvab oluliselt mükosfääris, kui võrrelda ümbritseva mullaga, samas aga üldine mikroobikoosluse mitmekesisus hoopis väheneb mükosfääris. Samuti on siin välja pakutud teooria, et on olemas „universaalsed fungifiilid”, kes võivad esineda kolme või rohkema seeneliigi mükosfääris ja „liigispetsiifilised fungifiilid”, keda leidub vaid ühe kindla seene mükosfääris. Fungifiilide olemasolu ühe või teise kandseene mükosfääris sõltub arvatavasti sellest, et milliseid seene poolt toodetavaid süsinikühendeid nad suudavad kasutada. Seega selgub siin, et seene kudetest vabanevad ühendid mõjutavad oluliselt ümbritsevat mikroobikooslust (Warmink jt 2009).

Samblike puhul on samuti leitud, et vajalikud oleksid uuringud, mis selgitaksid välja samblikutalluse bakterikoosluste biogeograafilised mustrid (Grube jt 2009b). Pakutud on, et samblikes olevat bakterikooslust mõjutavad nii biootilised, kui abiootilised tegurid, mille hulka kuuluvad samblike fülogeneetiline positsioon, aga ka geograafiline päritolu, susbtraat, mikroelupaiga tingimused ja seene poolt toodetavate sekundaarsete metaboliitide muster (Cardinale jt 2006). Mõnel juhul on aga kõige olulisema mikroobikoosluse kujundajana välja toodud just mükobiondi ehk seenpartneri identiteet, kuna on leitud, et erineva mükobiondiga samblikes on erinev bakterikooslus (Grube jt 2009a). Mükobiont võib toota mitmeid sekundaarseid metaboliite, mis määrab selle, et millised bakterid samblikus elavad. Kasutades pürosekveneerimist on siiski ka leitud, et fotobiont ning suures skaalas ka geograafiline päritolu, mõjutavad bakterikooslust samblikus, lisaks mükobiondi mõjule (Hodkinson jt 2012).

Kultiveeritavate bakterikoosluste struktuur on erinevates samblikuliikides valdavalt erinev, aga on ka samu taksoneid, keda on tuvastatud eri sambliku liikidest ja seejuures nii erinevatest, kui samadest kohtadest. Viimati mainitud taksonite puhul võib tegu olla üldiste lihhenofiilidega (Grube jt 2009a). Seega toetab ka sümbioos samblikes, nagu ka mükoriisne sümbioos, suures osas arusaama, et bakterikooslus võib eelkõige olla mõjutatud just mükobiondi poolt. Seetõttu võiks taaskord oletada, et ka seente viljakehad mõjutavad suurel määral ise bakterikooslusi, mis nende sisemust asustada võivad.

1.6 Käesoleva töö eesmärgid

Kandseente viljakehade sees leiduvaid baktereid on üsna vähe uuritud ja kui, siis pigem majanduslikult olulistes, kultiveeritavate seentes (Reyes jt 2004, Lee jt 2009a). Rohkem on tähelepanu pööratud ka bakteritele kottseentes (Barbieri jt 2005, 2007, Citterio jt 2001), mükobionti sisaldavates sümbioosides (Grube jt 2009a, Izumi jt 2006, Frey-Klett jt 2007, Sbrana jt 2002) ja seent ümbritseva mükosfääri mikroobikoosluses (Kataoka jt 2012, Warmink jt 2009). Käesolevas töös püüan kindlaks teha, et milliseid baktereid on üldse võimalik erinevate kandseente viljakehadest kultuuris välja kasvatada.

Paljusid baktereid ei õnnestu tõenäoliselt kultuuri viia, kuna mõned bakterid vajavad väga spetsiifilisi toitaineid, vitamiine või teatud füsioloogilist seisundit, et kasvada (Kataoka jt 2012). Mõningatel andmetel õnnestub üldises laboripraktikas kultiveerida umbes 1% keskkonnas esinevatest bakteritest. Siiski on ka kultuuri viimisest sõltuvatel meetoditel omad eelised, näiteks kultiveeritavate mikroorganismide iseloomustamine võib anda informatsiooni mikroobikoosluse liikmete ökoloogilise rolli kohta ja see suurendab omakorda teadmisi koosluse struktuurist. Lisaks on kultuuri viimisest sõltuvatel meetoditel võimalik koguda mikroorganismide kollektsioon, millega läbi viia biokeemilisi, geneetilisi ja füsioloogilisi eksperimente ja uurida nende organismide liikidevahelisi ja liigisiseseid interaktsioone (Lee jt 2011).

Seetõttu tuvastan viljakehades leiduvaid baktereid ka mass-sekveneerimise teel, mida ei ole varasemalt tehtud. Seejärel võrdlen kultuuris väljakasvatada õnnestunud erinevate bakteritaksonite arvukust ja kattuvust mass-sekveneerimisel saadavate tulemustega. Püüan välja selgitada millised on erinevused ja millest need võiksid tingitud olla.

Tegureid, mis mõjutavad seentega seotud bakterikooslusi, on veel ebapiisavalt uuritud. Välja on pakutud küll erinevaid võimalusi, nagu konkreetne seeneliik (Dahm jt 2005, Frey-Klett jt 2007, Warmink jt 2009), ümbritsev keskkond (Izumi jt 2006, Sbrana jt 2002) või ka mõlemad koos (Kumari jt 2013, Dahm jt 2005). Seetõttu püüan välja selgitada, mis ikkagi mõjutab viljakehades esinevate bakterikoosluste koosseisu, kas seenetakson ja/või kasvukohatüüp.

2. Materjal ja metoodika

2.1 Proovialad ja viljakehade kogumine

Seente viljakehad koguti 2014. aasta septembris kolmelt Ida-Eestis asuvalt kaitsealalt: Meenikunno maastikukaitsealalt, Karula rahvuspargist ja Agusalu looduskaitsealalt. Nende alade erinevaid kasvukohatüüpe ja sealse mulla keemilist koostist on kirjeldatud ja analüüsitud I. Hiiesalu magistritöös (2013). Eelnimetatud töös kasutatud uurimisalade hulgast valiti välja igalt kaitsealalt kolm kasvukohatüüpi (Tabel 1), mis oleksid niiskuse sisalduse ja mulla keemilise koostise poolest üksteisest võimalikult erinevad (Lisa 6). Välja valitud kasvukohatüüpideks on sambliku (*Cladina*) kasvukohatüübi nõmmemetsade tüübirühm, mustika (*V. myrtillus*) kasvukohatüübi palumetsade tüübirühm ja karusambla (*Polytrichum* sp.) kasvukohatüübi rabastuvate metsade tüübirühm. Nende kasvukohatüüpide mullad on erineva toitainete ja niiskuse sisaldusega ning erineva pH-ga (Paal, 1997).

Tabel 1. Proovialad

Ala	Kasvukohatüüp	Koordinaadid	Tähis
Meenikunno	Sambliku	57°56'17.2"N 27°24'12.6"E	M13
Meenikunno	Mustika	57°56'19.0"N 27°21'51.5"E	M41
Meenikunno	Karusambla	57°57'01.4"N 27°22'07.7"E	M33
Karula	Sambliku	57°38'44.5"N 26°24'53.3"E	K17
Karula	Mustika	57°39'14.8"N 26°29'49.9"E	K21
Karula	Karusambla	57°38'29.4"N 26°24'53.6"E	K19
Agusalu	Sambliku	59°03'42.8"N 27°30'58.3"E	A39
Agusalu	Mustika	59°03'28.4"N 27°30'06.8"E	A61
Agusalu	Karusambla	59°03'19.1"N 27°30'26.6"E	A72

Igalt kaitsealalt koguti kõigist kolmest kasvukohatüübist nelja seeneperekonna esindajaid ja igast liigist püüti leida vähemalt kolm viljakeha. Seeneperekonnad valiti lähtuvalt sellest, et oleks võimalik leida sama liigi või vähemalt sama perekonna esindajaid kõigist kolmest kasvukohatüübist ja et oleks esindatud kolm peamist seltsi kandseente (*Basidiomycota*) hõimkonnast, mille esindajatel on jala ja kübaraga viljakehad. Viljakehi koguti seltsidest puravikulaadsed (*Boletales*), pilvikulaadsed (*Russulales*) ja šampinjonilaadsed (*Agaricales*). Perekondadeks, mille viljakehi koguti, olid tatikud (*Suillus*), riisikad (*Lactarius*), pilvikud (*Russula*) ja kärbseseened (*Amanita*).

Põhiliikideks, mida koguti eelistatult, olid männiriisikas (*Lactarius rufus*), kollakaspruun kärbseseen (*Amanita fulva*) ja liivtatik (*Suillus variegatus*). Pilvikute perekonnast põhiliiki ei valitud, kuna nende koosseis proovialadel oli mitmekesisem ja seetõttu koguti pilvikute perekonnast kuut erinevat liiki. Kuna sambliku kasvukohatüübist kollakaspruuni kärbseseent ei leitud, siis asendati see punase kärbseseene (*Amanita muscaria*), pruuni kärbseseene (*Amanita porphyria*) või roosa kärbseseenega (*Amanita rubescens*). Tatikute perekonnas asendati liivtatik vajadusel lehmatatikuga (*Suillus bovinus*) ja riisikate perekonnas männiriisikas varieeruva riisikaga (*Lactarius quieticolor*). Viljakehad koguti I. Hiiesalu töös (2013) kirjeldatud 2500 ruutmeetristelt proovialadelt, järgides, et vahemaad viljakehade vahel oleksid võimalikult suured. Kogutud seeneperekonnad ja seeneliigid on kirjas tabelis 3. Kõik viljakehad pakiti eraldi fooliumisse ja säilitati jahedas ning toimetati laborisse nii kiiresti kui võimalik ning alustati kohe kas bakterite eraldamisega või säilitati viljakehi 4 °C juures kuni proovide võtmiseni.

2.2 Bakterite eraldamine puhaskultuuri

2.2.1 Seeneproovide võtmine

Kõik viljakehad lõigati stereomikroskoobi (SMZ1000) all steriilse skalpelliga pikuti pooleks ja tehti pikilõigul veel teistkordsed lõiked nii kübara osas, jala keskosas, kui jala alumises osas, et vältida võimalikku saastust viljakeha pinnalt lõikuse käigus kaasa tulla võivate mikroorganismide poolt. Enne igat lõiget steriliseeriti skalpell. Sellest piirkonnast seene pikilõigul, kust tehti mitu lõiget, võeti steriilse puuriga proov ehk tükike seenest, mille diameeter on 5 mm ja pikkus 4-6 mm. Igast seenest võeti kokku kolm tükikest, üks kübarast ja kaks jalast ning üks tükike sügavkülma panekuks. Osad hiljem juurde kogutud

viljakehad lõigati samuti vertikaalselt pooleks, kuid pooleks lõigatud seemed pandi 5 minutiks laminaarboksi UV-kiirguse alla, et lõikepind steriliseerida. Seejärel eraldati kolm proovitükki kultiveerimiseks ja sügavkülma panekuks, nagu eelpool kirjeldatud.

2.2.2 Bakterite viimine kultuuri

Tükikesed asetati 1,5 ml Eppendorfi tuubi, milles on 400 µl 0,1M fosfaatpuhvrit (1M SmartMix, pH 7, Naxo OÜ, Eesti) ja purustati väiksemateks tükkideks steriilse skalpelli abil. Selleks, et võimalikult suur hulk baktereid seene viljalihast kätte saada, purustati proovi tükid vorteksil (Vortex Genie2), raputades tuube viis minutit maksimumkiirusel.

Bakterite eraldamiseks puhaskultuuri võeti seenetükkide homogenaadist pipetiga 100 µl vedelikku ja plaaditi steriilse klaasspaatliga vähetoitelisele R2A söötmele (0,5g/l pärmiekstrakti, 0,5g/l peptooni, 0,5g/l kaseiini hüdrolysaati, 0,5 g/l glükoosi, 0,5 g/l tärklist, 0,3 g/l K_2HPO_4 , 0,024 g/l veevaba magneesiumsulfaati $MgSO_4$, 0,3 g/l naatriumpüruvaati ja 15 g/l agarit), mis valmistati vastavalt tootja poolt ettenähtud juhiste (Liofilchem, Italy). R2A söödet on kasutatud ka varasemates töödes, kus seente viljakehadest või samblike tallustest on baktereid isoleeritud (Dahm jt 2005, Grube jt 2009a, 2009b). Osadest viljakehadest tehti kultuuri viimise katses külvid TSA (tryptic soybean agar) söötmele (Liofilchem, Italy) (7,5 g/l kaseiini, 2,5 g/l sojaekstrakti, 2,5 g/l NaCl ja 9 g/l agarit), mille kontsentratsioon oli 2× väiksem, kui tootja poolt ette nähtud. Seejärel viidi külvidega Petri tassid +25 °C kappi. Kuna mõned bakterid võivad kasvada väga aeglaselt, inkubeeriti tase 28-30 päeva (Yara jt 2006), neid aeg-ajalt üle kontrollides, et hallitusseente poolset saastet tassidel ei oleks, mis bakterite kasvu võiks alla suruda ja et ühte tüüpi bakterikolooniad teisi alla ei suruks. Vajadusel külvati sel juhul eri tüüpi kolooniad eri tassidele. Kuu aja möödudes tehti igalt tassilt kõikidest visuaalselt erineva välimusega kolooniatest ümberkülvid TSA (tryptic soybean agar) söötmele (Liofilchem, Italy) (7,5 g/l kaseiini, 2,5 g/l sojaekstrakti, 2,5 g/l NaCl ja 9 g/l agarit). TSA-d on samuti kasutatud mitmetes varasemates seenebakterite töödes (Citterio jt 2001, Sbrana jt 2002, Bandara jt 2006, Barbieri jt 2007, Barbieri jt 2005). Ümberkülvidega tassidel kasvanud baktereid värviti Grami meetodil (Gephart jt 1981) 1-3 päeva pärast külvamist. Grami järgi värvitud preparaate uuriti õliimmersioonobjektiiviga valgusmikroskoobis (Nikon 80i) 1000× suurenduse juures, et teha kindlaks, kas tegemist on puhaskultuuridega ning kirjeldada rakkude kuju ja värvumist. Ümberkülvidega tassidelt tehti veelkord

ümberkülvid üksikkolooniatest, kui tassil oli näha mitmeid eri tüüpi kolooniad või kui mikroskopeerimisel ilmnas, et tegemist ei ole puhaskultuuriga.

Igast viljakehast väljakasvanud bakterite hulgast valiti välja eritüübilised kolooniad, mis erinesid kas koloonia suuruse, kuju, limasuse või värvuse poolest (Lee jt 2011). Kõik sel teel eraldatud bakteritüved läksid sekveneerimisele ja säilitamisele 50% glütserooli lahuses -80°C juures (Palaniappan jt 2010) ÖMI mükoloogia õppetooli puhaskultuuride kogus.

2.3 DNA eraldamine

2.3.1 Kultuuritüved

DNA eraldamiseks tehti veelkord ümberkülvid R2A tassidele ja 2-4 päeva möödudes viidi väike hulk tassil kasvanud bakteritest lüüsipuhvrissi, mis sisaldas 100µl lüüsilahust koostisega 0.8M Tris-HCl, 0.2 M (NH₄)₂SO₄, 0.2% w/v Tween-20 (10X Reaction Buffer B, Solis Biodyne, Tartu) ja 2,5µl Proteinaas K-d (20mg/ml, Fermentas, Leedu). Proove hoiti 14-15 tundi +56°C juures ja seejärel 15 minutit +98°C juures, et Proteinaas K inaktiveerida. Nendest puhaskultuurist võetud rakkude DNA-st amplifitseeriti kogu 16S rRNA järjestus, kasutades kahte universaalset praimerit: 27F5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3' ja 1492R5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3' (Palaniappan jt 2010, Lee jt 2011). PCR-i tegemiseks valmistati iga proovi jaoks 25µl reaktsioonisegu, mis sisaldas ühe proovi kohta 5 µl 5× HOT FIREPol Blend MasterMix'i (Solis Biodyne, Tartu, Eesti), 0,5 µl kumbagi praimerit ja 18 µl steriliseeritud vett ning 1 µl DNA lahust. PCR viidi läbi järgmiselt: denaturatsioon 15 min 95°C juures, 30 tsüklit 30 sek 95°C, 30 sek 58°C ja 1 min 72°C juures ning viimasena 10 min 72°C juures. PCR-i produkti olemasolu kontrolliti geel-elektroforeesil, kus 5 µl PCR-i produkti kanti 1%-lisele agarosgeelile, kuhu oli lisatud 1,2 µl etiidiumbromiidi, et DNA nähtavaks muuta ja 30 minuti möödudes vaadeldi produktide olemasolu UV-valguses. PCR-i produktide puhastamiseks kasutati ExoSAP-IT-d (USB Corporation, Cleveland, OH). 16S rDNA järjestused saadeti sekveneerimiseks firmasse Macrogen (Amsterdam). Kuna kõik bakterid ümberkülvamisel enam ei kasvanud, siis mõnede puhul sai DNA eraldatud vanematest kolooniatest.

2.3.2 Mass-sekveneerimine

Mass-sekveneerimiseks eraldati DNA kahel meetodil. 12 proovil eraldati DNA samal meetodil nagu kultuuritüvedest. Ühe proovi jaoks tõsteti siin ühe ala kõik sama seeneliigi

või sama perekonna tükid kokku ühte tuubi. Seeneliikidel, millel ühelt alalt leiti 1-2 viljakeha sisaldas proov vastavat arvu seenetükke (Lisa 3).

Teise meetodi puhul eraldati DNA kasutades High Pure PCR Template Preparation Kit'i (Roche Applied Science, Mannheim, Germany). Eralduseks kasutati 47 viljakeha, igast ühte sügavkülmas talletatud tükki. Kõigepealt purustati seenetükid metallkuulikestega (3min) ja seejärel fuugiti viis minutit kiirusel 3000 pööret minutis ning igast üksikust seenetükist eraldati DNA kasutades High Pure PCR Template Preparation Kit'i, vastavalt tootja poolt ettenähtud juhendile. Pärast DNA eraldust tõsteti ühe ala kõik sama seeneliigi või seeneperekonna proovid kokku ühte tuubi ja neid proove sai kokku 17 (Lisa 3).

Järgnevalt amplifitseeriti 16S rDNA varieeruv V4 regioon, kasutades praimereid 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') ja 806R (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3'). Iga proovi puhul kasutati unikaalset praimeripaari, kus kummalegi nimetatud praimerile on lisatud 10-12 aluspaari pikkune ühine tunnusjärjestus. 25 µl PCR-i segu sisaldas 16 µl steriliseeritud vett, 5 µl 5× HOT FIREPol Blend MasterMix'i (Solis Biodyne, Tartu, Eesti), kumbagi praimerit 0,5 µl ja 3 µl DNA lahust. PCR koosnes järgmistest etappidest: denaturatsioon 15 min 95°C juures, järgnes 25 tsüklit 30 sek 95°C, 45 sek 50°C ja 1 min 72°C juures ning viimasena ekstensioonietapp 10 min 72°C juures. PCR-i produktide olemasolu kontrolliti geelelektforeesil nagu eelpool kirjeldatud. Proovidel, millel produkti ei ilmnenu, korrati PCR-i tõstes tsüklite arvu 33-ni. DNA on sekveneeritud Eesti Biokeskuses kasutades Illumina Miseq tehnoloogiat.

2.4 Tööd DNA järjestustega

Kultuurist DNA eraldamisel saadud komplementaarsete ahelate järjestused liideti ja parandati kasutatades programmi *Sequencher 5.1* (Gene Codes Corporation, USA). 16S rDNA järjestused aligneeriti kasutades veebipõhist programmi MAFFT (<http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html>) ja kontrolliti üle ning lõigati positsioonidest 56 ja 1463 (positsioonid vastavad *Echerichia coli* nummerdamissüsteemile, Suzuki jt 1988) ühepikkusteks kasutades programmi *SeaView* (Galtier jt 1996). Igale geenijärjestusele leiti sarnaseimad järjestused rahvusvahelisest andmebaasist GenBank, kasutades sealset BLASTn rakendust

(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Järjestused tuvastati vastavalt sellele, et millise liigi 16S rDNA järjestusega on antud järjestusel suurim sarnasus. Selliste järjestuste puhul, mis on võrdselt sarnased mitme perekonna või liigiga, analüüsiti järjestusi ka kasutades andmebaase Ribosomal Database Project (RDP) (<http://rdp.cme.msu.edu>), Silva (Pruesse jt 2007) (<http://www.arb-silva.de>) ja GreenGenes (<http://greengenes.lbl.gov>) (Lisa 5).

Illumina Miseq sekveneerimisel saadud DNA järjestused töödeldi kasutades programmide paketti LotuS (Hildebrand jt 2014). Ühtekokku tuvastati 24520 DNA järjestust, mille rühmitamisel 97% sarnasuslävendi alusel saadi 158 operatsioonilis-taksonoomilist ühikut (OTU). Nende hulgast eemaldati kimäärid, eukarüootide järjestused ja need, mida leidis negatiivsetes kontrollproovides. Veel eemaldati need OTUd, mis esinesid vaid ühes proovis, juhul kui tegemist ei olnud selliste bakteriperekondadega, mida õnnestus eelnevalt kultuuris välja kasvatada. Andmenaaatriksisse jäi lõpuks alles 55 OTUt. OTUdele leiti sarnaseim vaste kasutades andmebaasi Silva (Pruesse jt 2007) (<http://www.arb-silva.de>) (Lisa 4).

Seejärel lõigati kultuurist saadud täispikkadest 16S rRNA geenijärjestustest programmis SeaView (Galtier jt 1996) samuti välja V4 regioon, mille järjestused liideti mass-sekveneerimise tulemusel saadud OTUde referentsjärjestustele. Saadud ühisele matriksile rakendati seejärel rühmitamist kasutades 97% sarnasuslävendit, programmis CD-HIT Suite (Huang jt 2010) (http://weizhong-lab.ucsd.edu/cdhit_suite/cgi-bin/index.cgi?cmd=cd-hit-est). Saadud andmestik sisaldas seega kõiki järjestusi viljakehadest, millest viidi nii baktereid kultuuri kui võeti proovid ka mass-sekvneerimiseks.

2.5 Andmeanalüüs

2.5.1 Kultuurist isoleeritud bakterid

Selleks, et selgitada, kas tuvastatud bakteritaksonite esinemine viljakehades sõltub seenetaksonist ja/või kasvukohatüübist, kasutati kultuurist isoleeritud bakterite mitmekesisuse analüüsimiseks kolmemõõtmelise sagedustabeli log-lineaarset analüüsi. Programm ei suutnud tellitud analüüsi täies mahus läbi viia andmetabeli „hõreduse” tõttu. Seetõttu uuriti iga arvukama bakteritaksoni jaoks eraldi tema esinemist mõjutavaid tegureid. Vastavates logistilise regressiooni analüüsides oli binaarseks sõltuvaks

muutujaks taksoni esinemine/puudumine igas uuritud viljakehas, sõltumatuteks muutujateks olid kasvukohatüüp ja seeneperekond ning prooviala oli juhuslik faktor. Analüüs tehti SAS protseduuriga Glimmix, mis taandab tulemuse F-statistikule, nagu tavalises ANOVAs. Analüüsi kaasati bakteritaksonid, mida esines vähemalt kümnes viljakehas.

2.5.2 Liidetud andmestik

Testimaks seenetaksoni, kasvukohatüübi ja mullaparametrite mõju viljakehade bakterikoosluste mitmekesisusele, viidi kultuurist eraldamise ja mass-sekveneerimise tulemuste liitmisel saadud andmestikuga läbi Permanova analüüs, kasutades R (vers. 2.15.0) programmipaketi Vegan Adonis funktsiooni (R Development Inc. 2013). Analüüs teostati binaarsele kujule teisendatud andmematriksiga. Võrdlemaks bakterikoosluse mitmekesisust (Vaz-Moreira jt 2011) kahel eri tuvastusmeetodil leitud bakteriperekondade põhjal, arvutati programmis Excel (Microsoft Corp., USA) Shannon-Wiener'i diversiteediindeks igas uuritud seeneperekonnas, vastavalt valemile $H' = - \sum p_i \ln(p_i)$ (Shannon and Weaver 1963).

Venni diagrammide koostamiseks kasutati veebipõhist programmi BioVenn (Hulsen jt 2008) (<http://www.cmbi.ru.nl/cdd/biovenn/index.php>). Bakterite kohane info, mille kohta arutelus viidet ei ole, pärineb veebilehelt MicrobeWiki (<https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/>) (Lisa1, 2).

2.6 Panus töösse

Katse disain: Kadri Põldmaa ja Mari Pent. Välitööd teostasid Kadri Põldmaa ja Mari Pent. Proovide võtmine ja bakterite kultuuris kasvatamine: Mari Pent. Laboratoorsed analüüsid: Rasmus Puusepp ja Mari Pent. Bioinformaatilised analüüsid teostasid Mohammad Bahram ja Kadri Põldmaa. Järjestuste toimetamine: Mari Pent ja Kadri Põldmaa. Statistilised analüüsid aitasid teostada Mohammad Bahram ja Toomas Tammaru. Töö kirjutas Mari Pent.

3. Tulemused

3.1. Puhaskultuuri eraldatud bakterid

3.1.1 Bakterite taksonoomiline jaotumine ja kultuuri viimise edukus

Kogutud 130-st viljakehast tehtud külvidest kasvas baktereid välja 108-st viljakehast (83%). Tabelis 2 on esitatud seeneliikide kaupa analüüsitud viljakehade arvud ja viljakehade arvud, millest baktereid välja kasvas. Viljakehade osakaal, millest baktereid isoleeriti oli kõige suurem perekonnas *Lactarius* (90,9%) ja kõige väiksem perekonnas *Suillus* (72,7%). Kasvukohatüüpide lõikes on viljakehade osakaal, millest baktereid välja kasvas, kõigis kolmes kasvukohatüübis üsna sarnane (Tabel 3). Kõige edukamaks osutus siiski bakterite külv karusambla kasvukohatüübist kogutud viljakehadest ja kõige vähemedukamaks sambliku kasvukohatüübist kogutud viljakehadest. Enamik tuvastatud bakteriliikidest olid gram-negatiivsed, vaid neli liiki 45-st olid gram-positiivsed, seega vaid 9% kõikidest kultuuris tuvastatud liikidest.

Lõikepinna steriliseerimisel UV-ga ja külvil TSA-le ei olnud erinevusi võrreldes sellega, kui tehti mitu pinnalõiget ja kasutati R2A söödet. Bakteritaksonite osakaalud seeneperekonniti ja ka erinevate taksonite olemasolu neis ei erinenud sõltuvalt sellest, kas lõikepinda steriliseeriti UV-ga ja külv tehti TSA-le või tehti mitu pinnalõiget ja kasutati R2A söödet. Mõlemal juhul on seeneperekonnas *Lactarius* ülekaalus perekond *Burkholderia* ja seeneperekonnas *Amanita* perekond *Pseudomonas* ning seeneperekonnas *Suillus* ei ole küll samad perekonnad ülekaalus, aga enamik nendest perekondadest kuulub mõlemal juhul sugukonda *Enterobacteriaceae*. Seetõttu analüüsiti edaspidi mõlemal pinnasteriliseerimismeetodil ja mõlemat söödet kasutades eraldatud baktereid koos.

Seente viljakehadest kultuuris väljakasvanud bakterid määrati 45 liiki. Erinevaid perekondi tuvastati 22 ja need kuuluvad 13 sugukonda, kümnesse seltsi, seitmesse klassi ja nelja hõimkonda.

Tabel 2. Puhaskultuuri eraldatud bakteritega viljakehade jaotumine seenetaksonite vahel.

Seene perekond	Seene liik	Kogutud viljakehade arv	Viljakehade arv, millest kasvas välja baktereid
Lactarius	<i>Lactarius rufus</i>	41	37
	<i>Lactarius quieticolor</i>	3	3
		44	40 (90,9%)
Suillus	<i>Suillus variegatus</i>	22	16
	<i>Suillus bovinus</i>	11	8
		33	24 (72,7%)
Amanita	<i>Amanita fulva</i>	22	20
	<i>Amanita muscaria</i>	2	1
	<i>Amanita rubescens</i>	1	1
	<i>Amanita porphyria</i>	1	0
		26	22 (84,6%)
Russula	<i>Russula emetica</i>	8	8
	<i>Russula paludosa</i>	7	6
	<i>Russula vinosa</i>	5	4
	<i>Russula rhodopodus</i>	2	1
	<i>Russula decolorans</i>	4	3
	<i>Russula aeruginosa</i>	1	0
		27	22 (81,5%)
Kokku:		130	108 (83%)

Tabel 3. Kogutud seeneliigid ja bakterikülvide edukus kasvukohatüüpide kaupa.

Kasvukohatüüp	Seeneliigid	Kogutud viljakehade arv	Viljakehade arv, millest kasvas välja baktereid
Sambliku	<i>Russula decolorans</i>	2	1
	<i>Russula vinosa</i>	1	1
	<i>Russula emetica</i>	2	2
	<i>Russula paludosa</i>	4	3
	<i>Suillus variegatus</i>	6	6
	<i>Suillus bovinus</i>	10	7
	<i>Lactarius rufus</i>	16	14
	<i>Amanita muscaria</i>	2	1
	<i>Amanita rubescens</i>	1	1
	<i>Amanita porphyria</i>	1	0
		45	36 (80%)
Karusambla	<i>Russula paludosa</i>	2	2
	<i>Russula emetica</i>	6	6
	<i>Russula vinosa</i>	1	0
	<i>Suillus variegatus</i>	8	6
	<i>Suillus bovinus</i>	1	1
	<i>Lactarius rufus</i>	16	15
	<i>Lactarius quieticolor</i>	3	3
	<i>Amanita fulva</i>	16	14
		53	47 (88,7%)
Mustika	<i>Russula vinosa</i>	3	3
	<i>Russula rhodopus</i>	2	1
	<i>Russula decolorans</i>	2	2
	<i>Russula paludosa</i>	1	1
	<i>Russula aeruginea</i>	1	0
	<i>Suillus variegatus</i>	8	4
	<i>Lactarius rufus</i>	9	8
	<i>Amanita fulva</i>	6	6
		32	25 (78,1%)

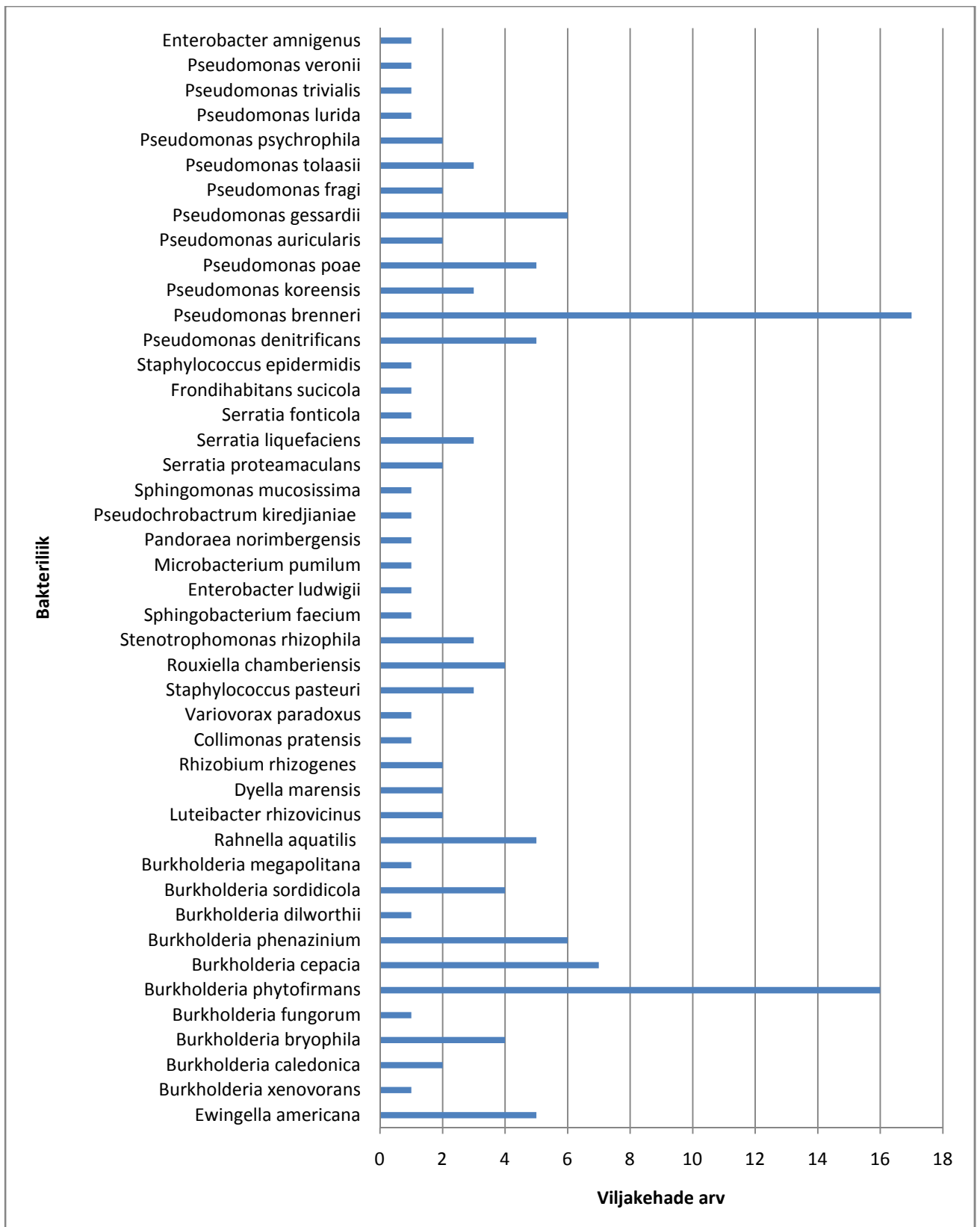
Enamik bakteritaksonitest (95%) kuulus hõimkonda *Proteobacteria*. Seitsme klassi hulgas domineerisid *Gammaproteobacteria* ja *Betaproteobacteria*, vastavalt 59,6% ja 32,2% isoleeritud bakteritaksonitest (Joonis 6B). Seltsi tasemel on enam-vähem võrdselt ülekaalus seltsid *Pseudomonadales* (33,6%) ja *Burkholderiales* (32,2%) (Joonis 7B). Kõigi viljakehade kohta kokku tuvastati kultuuris kõige rohkem baktereid perekondadest *Pseudomonas* ja *Burkholderia*, vastavalt kuulus kumbagi perekonda 34% ja 30% tuvastatud bakteritest. Kolmandal kohal oli perekond *Serratia*, kuhu kuulus 7,6% bakteritest. Liikidest olid kõige arvukamad *Pseudomonas brenneri* ja *Burkholderia phytofirmans* (Joonis 1).

3.1.2 Bakterite taksonoomiline jaotumine seeneperekondades

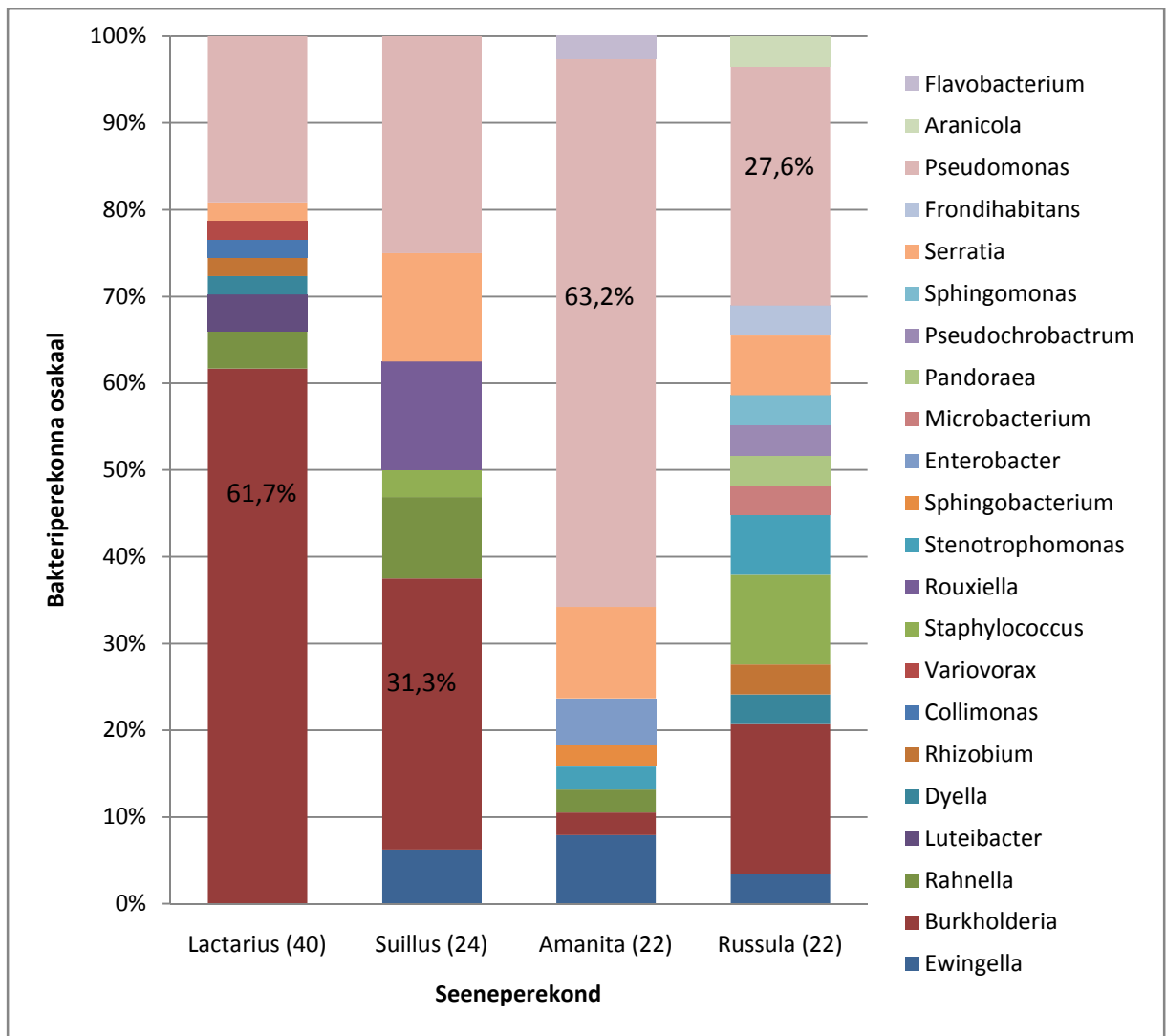
Hõimkonda *Proteobacteria* kuulusid kõik seeneperekonnast *Lactarius* väljakasvanud bakterid (n=47), seeneperekonnas *Suillus* oli üks esindaja ka hõimkonnast *Firmicutes* (n=32) ja seeneperekonnas *Amanita* oli lisaks kaks hõimkonna *Bacteroidetes* esindajat (n=38). Seeneerekonna *Russula* viljakehadest eraldati lisaks proteobakteritele veel kolme hõimkonna esindajaid: *Proteobacteria*, *Firmicutes* ja *Actinobacteria*.

Klassi *Gammaproteobacteria* kuuluvad bakterid olid ülekaalus perekondades *Suillus*, *Russula* ja *Amanita*. Riisikate perekonnas domineerisid aga klassi *Betaproteobacteria* kuuluvad bakterid (Joonis 4). Seltsi tasemel oli pilvikute ja kärbseseente viljakehades ülekaalus selts *Pseudomonadales* ning riisikate viljakehades selts *Burkholderiales*. Tatikute perekonnas oli kõige rohkem esindajaid seltsist *Enterobacteriales* (Joonis 3).

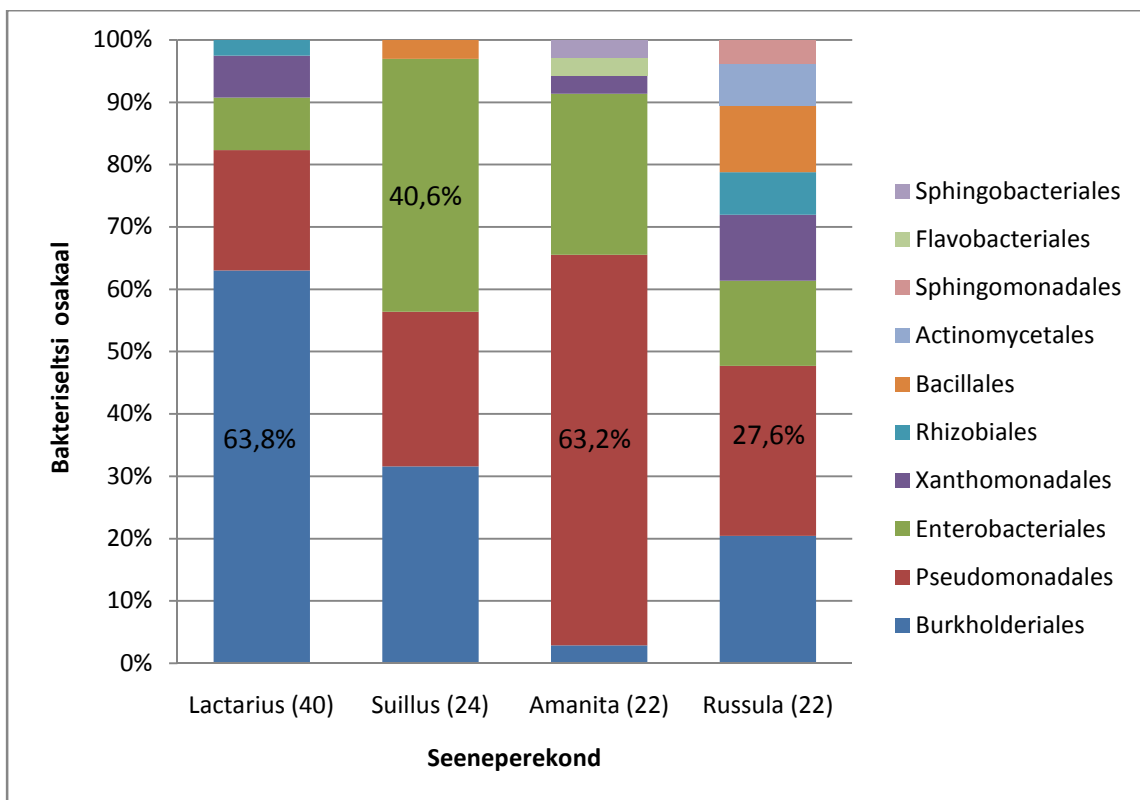
Riisikate viljakehadest väljakasvanud bakterite hulgas kuulus enamik perekonda *Burkholderia* ja liiki *Burkholderia phytofirmans* (31,8%), kärbseseente viljakehadest aga perekonda *Pseudomonas* ja liiki *Pseudomonas brenneri* (34,3%). Perekondades tatik ja pilvik on bakteriperekonnad ja liigid üsna ühtlaselt jaotunud. Siiski võib öelda, et seeneperekonnas *Suillus* on veidi rohkem perekonna *Burkholderia* esindajaid, liikidest aga on võrdselt kõige arvukamad liigid *Burkholderia phenazinium* (13,8%) ja *Rouxiiella chamberiensis* (13,8%). Pilvikutes on enim esindajaid perekonnast *Pseudomonas* ja ühtki selge ülekaaluga liiki ei ole (Joonis 2).



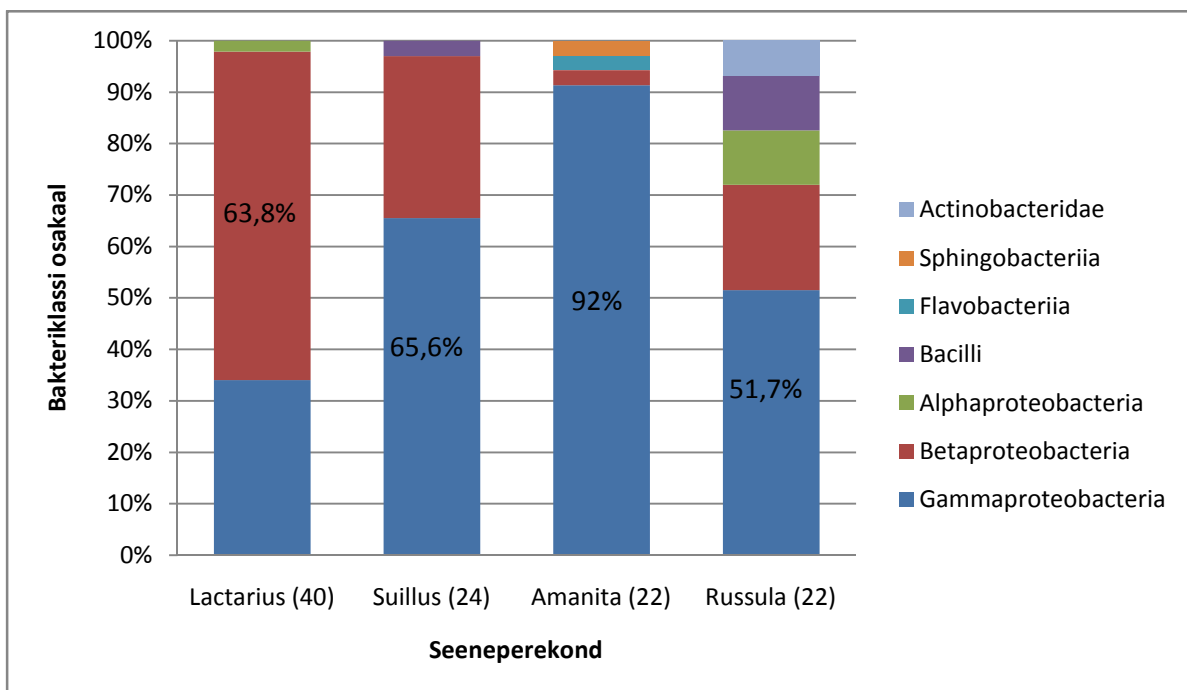
Joonis 1. Kultuurist väljakasvanud bakterite jaotumine kogutud viljakehade vahel.



Joonis 2. Puhaskultuuri eraldatud bakteriperekondade osakaalud seeneperekondades, sulgudes on esitatud viljakehade arvud.



Joonis 3. Puhaskultuuri eraldatud bakteriseltside osakaalud seeneperekondades, sulgudes on esitatud viljakehade arvud.



Joonis 4. Puhaskultuuri eraldatud bakteriklasside osakaalud seeneperekondades, sulgudes on esitatud viljakehade arvud.

Kõige rohkem erinevaid bakteriliike ühe seenetaksoni viljakehade üldarvu kohta isoleeriti perekonna *Russula* viljakehadest. Keskmine väljakasvanud bakteriliikide arv ühe viljakeha kohta oli suurim perekonnas *Amanita*, mille ühest viljakehast kasvas välja kuni neli bakteriliiki (Tabel 4). Suuremast osast viljakehadest välja vaid üks bakteritakson.

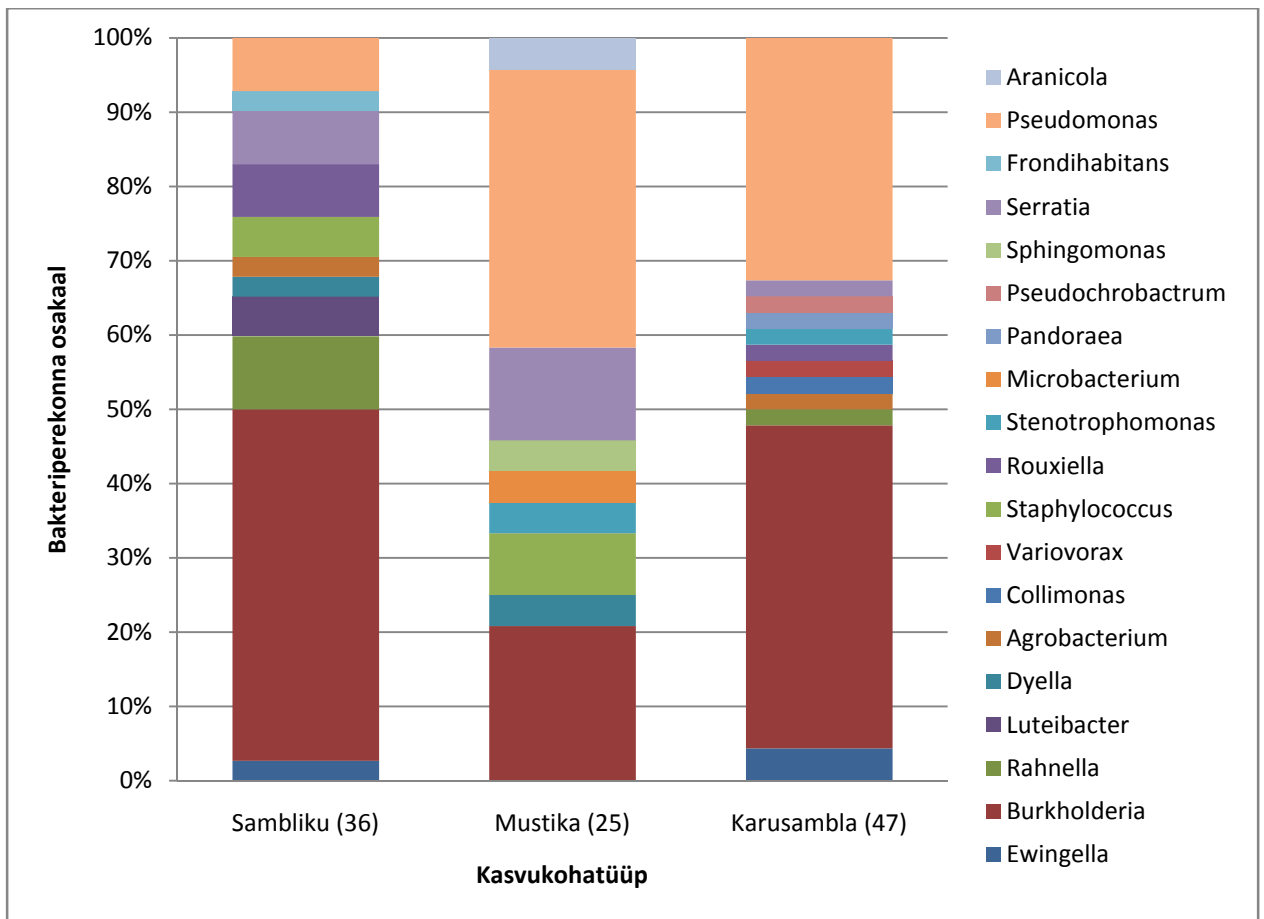
Tabel 4. Eri seeneperekondadest välja kasvanud bakteritaksonite arv.

Seene perekond (viljakehade arv)	Maksimaalne väljakasvanud bakteritaksonite arv ühe viljakeha kohta	Keskmine väljakasvanud bakteritaksonite arv ühe viljakeha kohta	Erinevate bakteritaksonite suhtarv viljakehade kohta ¹
<i>Lactarius</i> (40 tk)	3	1,18	0,45
<i>Suillus</i> (24 tk)	2	1,33	0,71
<i>Amanita</i> (22 tk)	4	1,73	0,82
<i>Russula</i> (22 tk)	3	1,32	1,04

¹ Kultuuri eraldatud bakteritaksonite arv jagatud viljakehade üldarvuga vastavas seeneperekonnas

3.1.3 Bakterite taksonoomiline jaotumine kasvukohatüüpides

Sambliku ja karusambla kasvukohatüüpidest kogutud viljakehadest leiti kõige rohkem liiki *Burkholderia phytofirmans*. See liik moodustas 19,5% kõigist sambliku kasvukohatüübist isoleeritud bakteritest ja 14,3% kõigist karusambla kasvukohatüübist tuvastatud bakteritest. Mustika kasvukohatüübis olid viljakehades võrdselt kõige levinumad liigid *Pseudomonas gessardii* (14,3%) ja *Burkholderia phytofirmans* (14,3%). Perekondadest oli sambliku ja karusambla kasvukohatüübis ülekaalus perekond *Burkholderia*, moodustades sambliku kasvukohatüübis 47,5% ja karusambla kasvukohatüübis 44,2% kõigist tuvastatud bakteritest. Mustika kasvukohatüübis kuulus kõige suurem osa bakteritest perekonda *Pseudomonas* (37,5%). Joonisel 5 on esitatud bakteriperekondade osakaalud eri kasvukohatüüpides. Kasvukohatüüpide võrdlusest oli välja jäetud kärbseseente viljakehad, kuna sambliku kasvukohatüübist ei olnud selle perekonna esindajaid üldiselt eriti võimalik leida ja selle perekonna olemasolu oleks hakanud kasvukohatüüpide võrdlust mõjutama.



Joonis 5. Kultuurist tuvastatud bakteriperekondade osakaalud kasvukohatüüpide kaupa, viljakehade arvud on esitatud sulgudes.

3.1.4 Seente viljakehadest kultuuri eraldatud bakterite esinemist mõjutavad tegurid

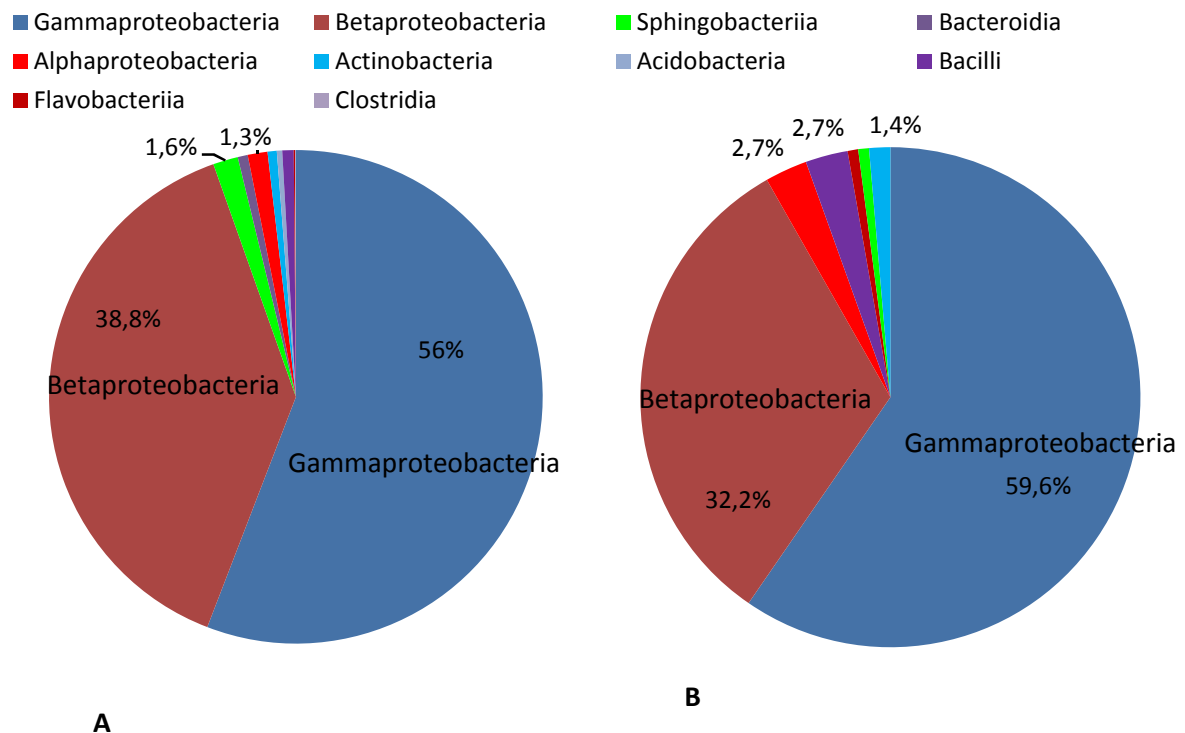
Peaaegu kõigil juhtudel, välja arvatud bakteriperekonna *Serratia* korral, oli bakteritaksoni olemasolu sõltuv peremeesseene perekonnast ($p < 0,05$), kuid ühelgi juhul ei olnud see sõltuv kasvukohatüübist ($p > 0,05$) (Tabel 7). Kasutatud logistiline regressioonanalüüs võimaldab ka võrrelda iga bakteritaksoni esinemissagedust peremeesseente taksonite kaupa (logistilise regressiooni LS MEANS funktsioon). Nii näiteks tuvastati liiki *Pseudomonas brenneri* kõige sagedamini seeneperekonnast *Amanita* ja kõige harvem perekondadest *Suillus* ja *Russula*. Perekonda *Burkholderia* tuvastati seevastu kõige sagedamini seeneperekonnast *Lactarius* ja kõige harvem perekonnast *Amanita* (Tabel 8).

Tabel 7. Seeneperekonna ja kasvukohatüübi mõju arvukamate bakteritaksonite esinemisele seente viljakehades. Sõltuvaks muutujaks on bakteritaksoni olemasolu, sõltumatuteks muutujateks seeneperekond ja kasvukohatüüp ning prooviaala on juhuslik faktor. Bakteritaksoni olemasolu on sõltuv peremeesseene perekonnast ($p < 0,05$) ja ei sõltu kasvukohatüübist ($p > 0,05$).

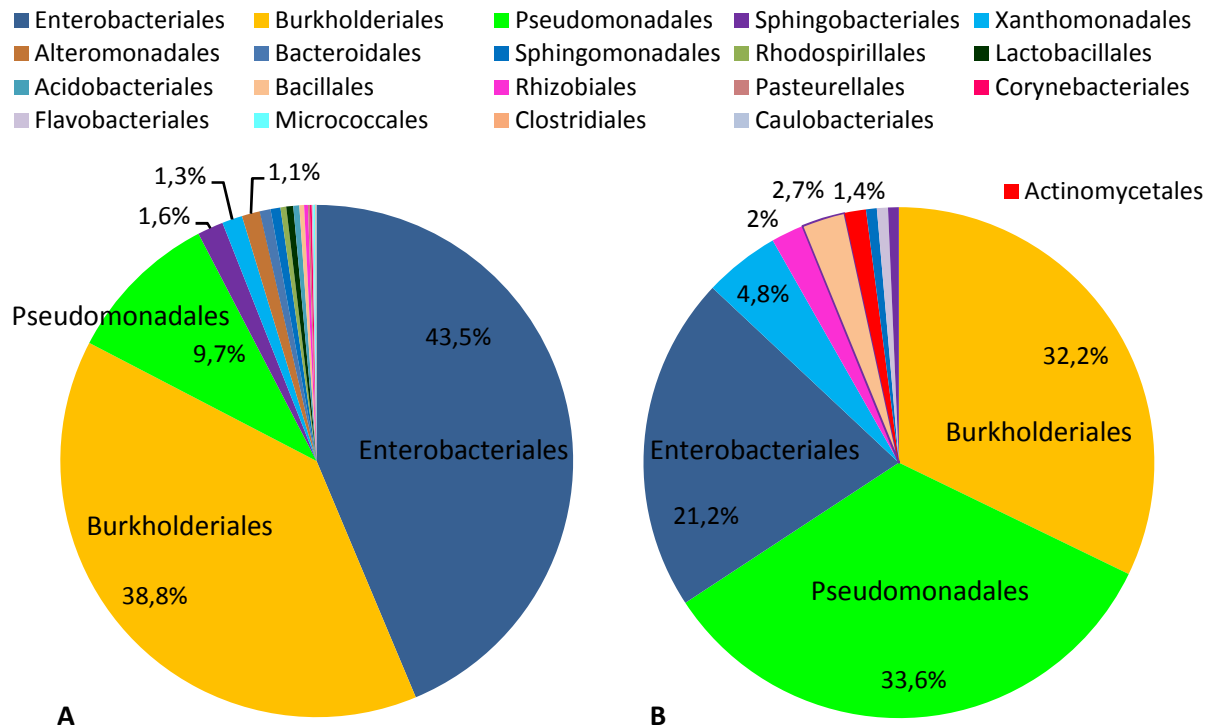
Bakteritakson		Ndf	ddf	F	p
<i>Pseudomonas</i>					
<i>brenneri</i>					
	Seeneperekond	3	129	4,08	0,008
	Kasvukohatüüp	2	5,786	0,10	0,907
<i>Serratia</i>					
	Seeneperekond	3	139	1,11	0,347
	Kasvukohatüüp	2	5,864	1,23	0,358
<i>Burkholderia</i>					
	Seeneperekond	3	139	7,45	<0,001
	Kasvukohatüüp	2	7,139	1,04	0,403
<i>Pseudomonas</i>					
	Seeneperekond	3	139	3,88	0,011
	Kasvukohatüüp	2	7,479	3,20	0,099
<i>Enterobacteriales</i>					
	Seeneperekond	3	140	3,65	0,014
	Kasvukohatüüp	2	5,938	0,29	0,756
<i>Pseudomonadales</i>					
	Seeneperekond	3	140	4,02	0,008
	Kasvukohatüüp	2	7,281	3,12	0,105
<i>Burkholderiales</i>					
	Seeneperekond	3	140	8,16	<0,001
	Kasvukohatüüp	2	6,579	1,45	0,301
<i>Betaproteobacteria</i>					
	Seeneperekond	3	140	8,16	<0,001
	Kasvukohatüüp	2	6,579	1,45	0,301
<i>Gammaproteobacteria</i>					
	Seeneperekond	3	140	7,61	<0,001
	Kasvukohatüüp	2	5,449	1,04	0,414

Tabel 8. Mudelitesse (Tabel 7) kaasatud sõltumatu faktori tasemte (seeneperekondade) võrdlus. Parameetrite hinnangud põhinevad logistilise regressiooni LSMEANS funktsioonil, suurem väärtus vastab asjaomase seeneperekonna sagedasemale asustatusele bakterite poolt.

Bakteritakson	Seeneperekond	Hinnang	Standardviga
<i>Pseudomonas brenneri</i>	<i>Amanita</i>	-0,75	0,47
	<i>Lactarius</i>	-2,61	0,62
	<i>Suillus</i>	-3,27	1,04
	<i>Russula</i>	-3,30	1,03
<i>Pseudomonas</i>	<i>Amanita</i>	0,14	0,42
	<i>Suillus</i>	-1,03	0,47
	<i>Russula</i>	-1,20	0,48
	<i>Lactarius</i>	-1,51	0,43
<i>Burkholderia</i>	<i>Lactarius</i>	0,20	0,44
	<i>Suillus</i>	-1,08	0,55
	<i>Russula</i>	-1,66	0,60
	<i>Amanita</i>	-4,05	1,12
<i>Serratia</i>	<i>Suillus</i>	-1,80	0,64
	<i>Amanita</i>	-1,99	0,64
	<i>Russula</i>	-2,68	0,79
	<i>Lactarius</i>	-3,76	1,04
<i>Burkholderiales</i>	<i>Lactarius</i>	0,36	0,42
	<i>Suillus</i>	-1,04	0,53
	<i>Russula</i>	-1,52	0,56
	<i>Amanita</i>	-4,10	1,10
<i>Enterobacteriales</i>	<i>Suillus</i>	-0,44	0,44
	<i>Amanita</i>	-0,82	0,44
	<i>Russula</i>	-1,80	0,57
	<i>Lactarius</i>	-2,36	0,55
<i>Pseudomonadales</i>	<i>Amanita</i>	0,14	0,42
	<i>Suillus</i>	-1,03	0,47
	<i>Russula</i>	-1,20	0,48
	<i>Lactarius</i>	-1,55	0,43
<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Lactarius</i>	0,36	0,42
	<i>Suillus</i>	-1,04	0,53
	<i>Russula</i>	-1,52	0,56
	<i>Amanita</i>	-4,10	1,10
<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Amanita</i>	2,67	0,71
	<i>Suillus</i>	0,73	0,52
	<i>Russula</i>	0,09	0,49
	<i>Lactarius</i>	-0,56	0,43



Joonis 6. Bakterite jaotumine klasside vahel. **A.** Mass-sekveneermisel tuvastatud bakterite jaotumine klassidesse, **B.** kultuurist väljakasvanud bakterite jaotumine klassidesse.



Joonis 7. Bakterite jaotumine seltside vahel. **A.** Mass-sekveneermisel tuvastatud bakterite jaotumine seltsidesse, **B.** kultuurist väljakasvanud bakterite jaotumine seltsidesse.

3.2 Mass-sekveneerimisel tuvastatud bakterid

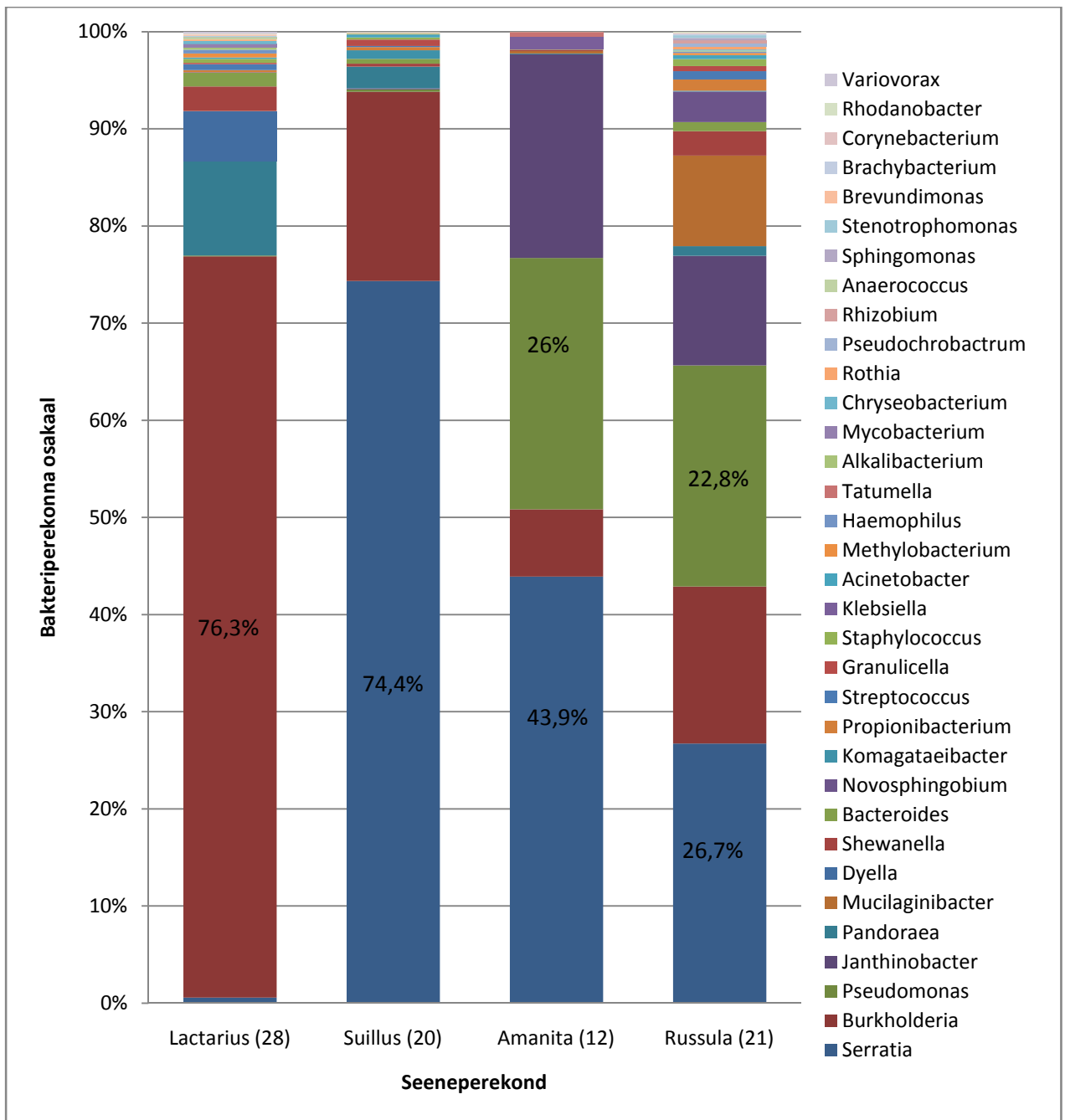
3.2.1 Mass-sekveneerimisel tuvastatud bakterite taksonoomiline jaotumine

Leitud sarnaseimate järjestustega bakterite taksoninimede alusel määrati bakterite kuulumus 34 perekonda, 28 sugukonda, 20 seltsi, 10 klassi ja viide hõimkonda. Valdav osa bakteritest (95,8%) kuulub hõimkonda *Proteobacteria*, klassi *Gammaproteobacteria* (56%) (Joonis 6A) ja seltsidesse *Enterobacteriales* (43,5%) ning *Burkholderiales* (38,8%) (Joonis 7A). Bakteriperekondade hulgas domineerisid perekonnad *Serratia* (43%), *Burkholderia* (29%) ja *Pseudomonas* (9%).

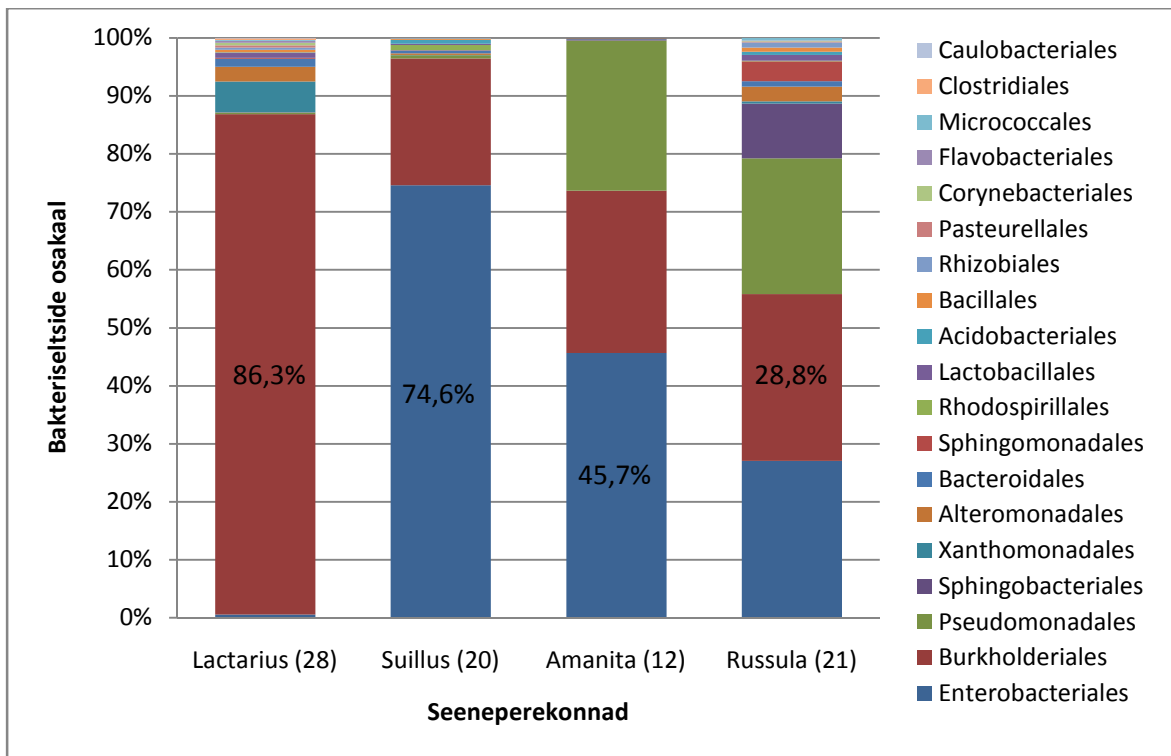
3.2.2 Mass-sekvneerimisel tuvastatud bakterite jaotumine seeneperekondades

Riisika viljakehadest tuvastatud bakteritest kuulus valdav osa klassi *Betaproteobacteria* ja tatikutest, kärbseseentest ning pilvikutest tuvastatud bakteritest klassi *Gammaproteobacteria* (Joonis 10). Seltsidest moodustas seeneperekondades *Lactarius* ja *Russula* suurima osa selts *Burkholderiales* ning seeneperekondades *Suillus* ja *Amanita* selts *Enterobacteriales* (Joonis 9).

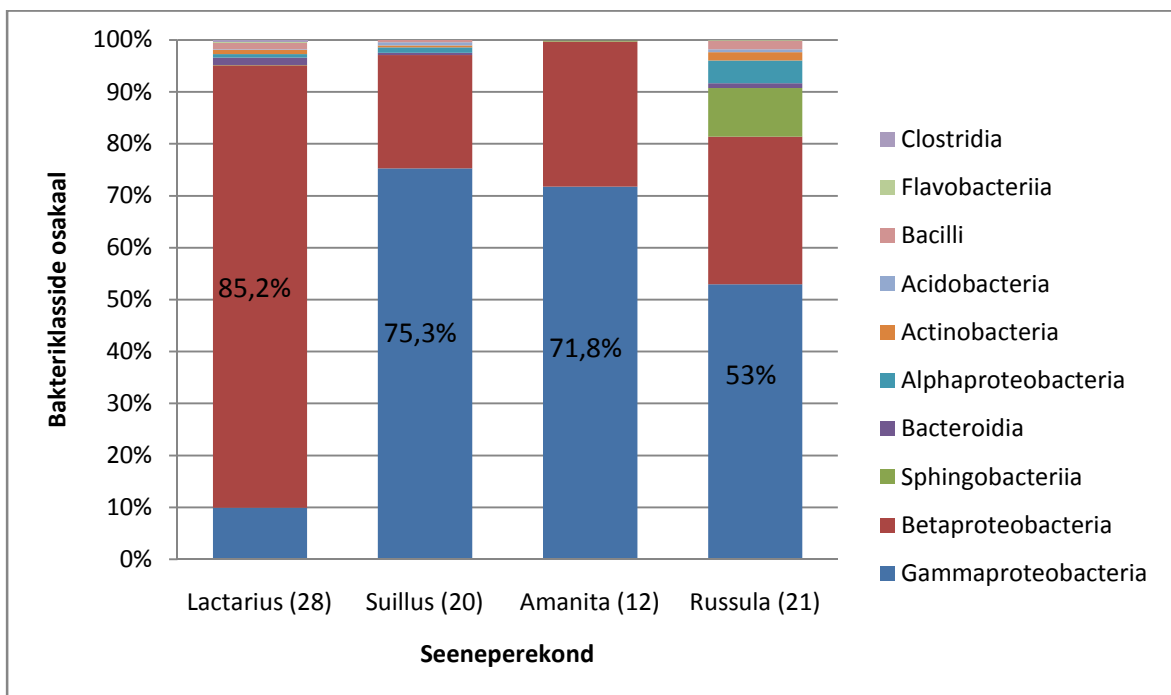
Seeneperekonnas *Lactarius* kuulus kõige suurem hulk bakteritest perekonda *Burkholderia*. Perekondades *Suillus*, *Amanita* ja *Russula* on aga ülekaalus bakteriperekond *Serratia*. Perekonnas *Amanita* moodustas üsna suure osa tuvastatud bakteritest ka perekond *Pseudomonas* ja ka perekonnas *Russula* oli bakteriperekonnaga *Serratia* peaaegu võrdselt esindatud perekond *Pseudomonas* (Joonis 8).



Joonis 8. Mass-sekveneermisel tuvastatud bakteriperekondade osakaalud eri seeneperekondades, sulgudes on esitatud viljakehade arvud.



Joonis 9. Mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteriseltside osakaalud eri seeneperekondades, sulgudes on esitatud viljakehade arvud.



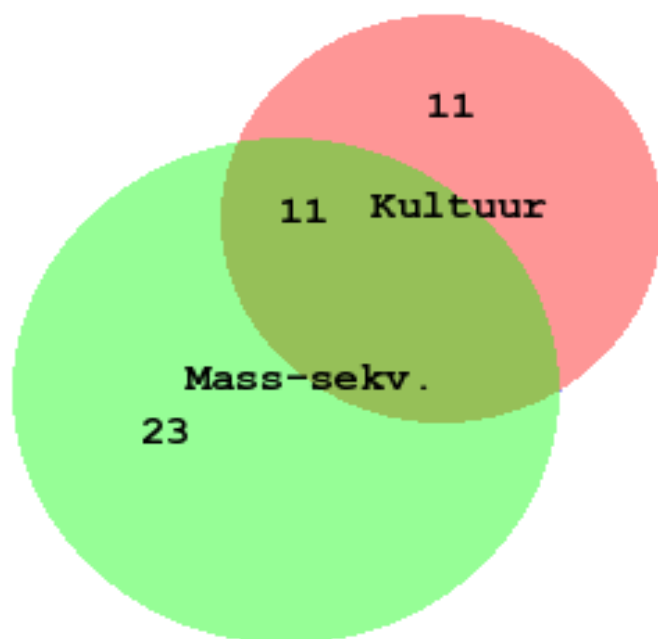
Joonis 10. Mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteriklasside osakaalud eri seeneperekondades, sulgudes on viljakehade arvud.

3.3 Bakterite mitmekesisus ja seda mõjutavad tegurid

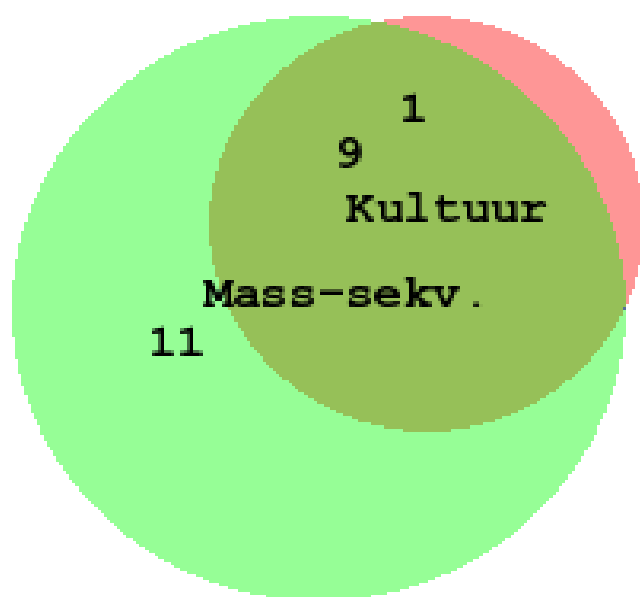
3.3.1 Kultuuris kasvatatud ja mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteritaksonite võrdlus

Bakterite jaotumine klassidesse on mõlema tuvastusmeetodi puhul sarnane (Joonis 6) ja kolm enim esindatud seltsi on samuti samad, kuid nende osakaalud on erinevad (Joonis 7). Kui võrrelda kultuuris väljakasvanud ja mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteritaksonite omavahelist kattuvust, siis klassi ja hõimkonna tasemel kultuuris selliseid taksonid juurde ei tuvastatud, mida mass-sekveneerimisel ei oleks leitud. Perekonna ja seltsi tasemel leiti mass-sekveneerimisel rohkem erinevaid taksonid, kui kultuurist kasvatamisel. Samal ajal on aga mõlemal tasemel ka kultuurist isoleeritud selliseid taksonid, mida mass-sekveneerimisel ei tuvastatud, näiteks selts *Actinomycetales* (Joonis 11, 12).

Võrreldes taksonite arvukusi eri tasemetel kahe erineva tuvastusmeetodi puhul, siis mass-sekveneerimisel on kõigil tasemetel tuvastatud rohekem eri taksonid, kui kultuurist väljakasvatamisel (Tabel 5). Mõlema tuvastusmeetodi puhul on bakteriperekondade mitmekesisuse võrdlemiseks seeneperekondades arvutatud Shannon-Wiener'i indeks (Tabel 6). Indeks on mõlema meetodi korral kõige kõrgem perekonnas *Russula*, samas mass-sekveneerimise puhul on indeks kõige madalam perekonnas *Suillus* ning kultuurist tuvastamisel perekonnas *Lactarius*. Üldiselt on kõigis seeneperekondades bakteriperekondade kohta arvutatud Shannon-Wiener'i diversiteediindeks kõrgem kultuurist tuvastamisel ja veidi madalam mass-sekveneerimise tulemusel. Indeksi arvutamisel ei ole arvesse võetud analüüsitud viljakehade erinevat arvu.



Joonis 11. Bakteriperekondade kattumine kahel erineval tuvastusmeetodil.



Joonis 12. Bakteriseltside kattumine kahe erineva tuvastusmeetodi puhul.

Tabel 5. Bakteritaksonite arvukused kahel eri tuvastusmeetodil.

Meetod (viljakehade arv)	Liik/OTU	Perekond	Sugukond	Selts	Klass	Hõimkond
Kultuurist ¹ (108)	45	22	13	10	7	4
Mass-sekveneerimisel ² (81)	119	34	28	20	10	5

¹ Liigid määratud 16S rRNA geenijärjestuse sarnaseimate vastete määrangute alusel

² OTU-d leiti V4 regiooni järjestuste rühmitamisel kasutades 97% sarnasuslävendit

Tabel 6. Shannon-Wiener'i diversiteediindeksid (H') kultuuris ja mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteriperekondade kohta neljas seeneperekonnas.

Seeneperekond	H' kultuuris	H' mass-sekveneerimisel
<i>Lactarius</i>	1,29	1,03
<i>Suillus</i>	1,73	0,84
<i>Amanita</i>	1,36	1,34
<i>Russula</i>	2,31	2,07

Mitmetel tuvastatud bakteriperekondadel ja liikidel on kirjanduse põhjal ühiseid omadusi, nagu võime lagundada keerulisi ja toksilisi ühendeid ning tõenäoliselt ka võime siduda lämmastikku. Enamasti on nii kultuuris, kui mass-sekveneerimisel tuvastatud bakterite puhul tegemist mulla- ja veebakteritega, kes on hingamistüübilt aeroobid või fakultatiivsed anaaeroobid. Samas on mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteritel ka mitmeid spetsiifilisi nõudlusi, mistõttu ilmselt ei õnnestugi neid sageli kultuuris kasvatada. Lisades on esitatud kokkuvõtlikud tabelid nii kultuuris, kui mass-sekveneerimisel tuvastatud bakterite ökoloogia ja omaduste kohta ning märgitud bakteriperekonnad ja bakteriliigid, mida varasemalt ei ole seentega seostatud (vt Lisa 1, Lisa 2).

3.3.2 Kultuuris kasvatatud ja mass-sekveneerimisel tuvastatud bakterite esinemist mõjutavad tegurid

Kultuuris kasvatamisel ja mass-sekveneerimisel saadud koondandmestikuga läbiviidud Permanova analüüs näitas, et seenetaksonil on seene viljakehas olevale bakterikooslusele statistiliselt oluline mõju. Tulemused saadi seeneliigi ($F_{10,28}=2,08$, $p=0,001$) ja seeneperekonna ($F_{3,28}=2,46$, $p=0,004$) tasemel. Seente liigiline kuuluvus selgitas bakterikoosluse varieeruvusest 21% ja seente perekondlik kuuluvus 12%. Ühelgi analüüsitud mullaparametritest (Lisa 6) ei leitud statistiliselt olulist mõju bakterikoosluse varieeruvusele ($p>0,05$).

4. Arutelu

Töö eesmärkideks oli välja selgitada, et milliseid baktereid on võimalik seente viljakehadest välja kasvatada ja kuidas erineb kultuuris tuvastatud bakterikooslus mass-sekveneerimisel saadavatest tulemustest. Varasemates töödes on baktereid tuvastatud kottseente hulka kuuluvate trühvlite viljakehadest (Barbieri jt 2005, 2007, 2010) ja kolmes töös on isoleeritud baktereid ka kandseente viljakehadest (Zagriadskaia jt 2013, Dahm jt 2005, Kumari jt 2013), kuid kõigil juhtudel on kandseentest baktereid tuvasatatud vaid kultuuri viimise meetodil. Käesolev töö on oluline just seetõttu, et varasemalt ei ole seente viljakehades leiduva bakterite mitmekesisuse tuvastamiseks mass-sekveneerimist kasutatud. Teiseks eesmärgiks oli selgitada, et mis tegurid mõjutavad bakteritaksonite olemasolu seente viljakehades. Seent ümbritseva ja seene viljakeha asustava bakterikoosluse mõjutajatena on välja pakutud nii peremeesseent, kui ka kasvukohatüüpi (Kumari jt 2013, Dahm jt 2005, Warmink jt 2009), kuid ühelgi juhul ei ole mõjutavaid tegureid täpsemalt analüüsitud. Käesolev töö kinnitab, et kõige olulisemat mõju seente viljakehi asustavale bakterikooslusele avaldab seenetakson.

4.1 Kahel erineval meetodil tuvastatud bakterikoosluste võrdlus

Enamiku nii kultuurist kasvanud (95%), kui ka mass-sekveneerimisel tuvastatud (98.7%) bakteritest moodustasid gram-negatiivsed pulkbakterid. Ka varem on leitud, et üldiselt domineerivad seentes just seda tüüpi bakterid (Dahm jt 2005). Mass-sekveneerimisel tuvastatud 34-st perekonnast kõigest kaheksa ja kultuurist eraldatud 22-st perekonnast kolm perekonda olid gram-positiivsed.

Käesolevas töös leiti mõlema meetodi tulemusel kõige rohkem baktereid hõimkonnast *Proteobacteria* ja klassist *Gammaproteobacteria*. Sellesse klassi kuulus kultuurist tuvastatud bakteritest 59% ja mass-sekveneerimisel kindlaks tehtud bakteritest 56%. Arvukuselt järgnes klass *Betaproteobacteria*. Seega kõrgematel taksonoomilistel tasemetel, nagu hõimkonna ja klassi tase, annavad bakterite mitmekesisuse osas sama tulemuse nii kultuuri viimise meetod, kui ka mass-sekvneerimine. Zagriadskaia jt (2013) leidsid samuti, et kandseente viljakehades domineerivad tuvastatavate bakterite hulgas hõimkond *Proteobacteria* ja klassid *Gammaproteobacteria* ning *Betaproteobacteria*, kusjuures esimene nendest on arvukam kui teine. Ka trühvli viljakehadega tehtud

uurimustes tuvastati kultuuri viimise meetodil kõige rohkem γ -proteobaktereid. Samas leiti 16S rRNA kloonide raamatukogu kasutades, et trühvlites moodustavad enamiku bateritest α -proteobakterid, keda on keeruline kultuuris kasvatada (Barbieri jt 2005, 2007). Kirjeldatud erinevus käesoleva töö ja trühvli viljakehi analüüsinud tööde vahel võib tuleneda uuritud seente erinevusest. Nimelt on trühvlid maa-aluste viljakehadega kottseened, käesoleva töö uurimisobjektideks olid aga kandseente viljakehad, milles ei pruugigi α -proteobakterite osakaal nii suur olla.

Seltsi tasemel olid mõlema tuvastusmeetodi puhul kõige arvukamalt esindatud seltsid *Pseudomonadales*, *Burkholderiales* ja *Enterobacteriales*, kuid nende osakaalud eri meetodeid kasutades siiski erinesid. Nimelt kuulus kultuuris eraldatud bakteritest enamik seltsi *Pseudomonadales*, mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteritest aga seltsi *Enterobacteriales* (Joonis 7).

Võrreldes bakteritaksonite kattuvust kultuurist eraldatud bakterite ja mass-sekvneerimisel tuvastatud bakterite puhul, siis kõrgematel tasememetel, nagu klassi ja hõimkonna tase, ei lisandunud kultuurist eraldamisel ühtki taksonit, mida mass-sekvneerimisel ei oleks tuvastatud. Samas on kõigil tasemetel mass-sekvneerimise tulemusel saadud kätte rohkem erinevaid taksoneid, kui kultuuris (vt Tabel 5). Perekonna ja ka seltsi tasemel on ka kultuuris eraldatud selliseid taksoneid, mida mass-sekvneerimisel ei tuvastatud. Näiteks on seltsi *Actinomycetales* tuvastatud ainult kultuuris (vt Joonis 13) ja ka Yashiro jt (2011) on oma õunapuu lehtede bakterikooslust kirjeldavas töös leidnud, et seltsi *Actinomycetales* õnnestub tuvastada vaid kultuuris kasvatamisel.

Bakteriperekondade mitmekesisuse hindamisel, kasutades Shannon-Wiener'i diversiteediindeksit, ilmnes, et mitmekesisus eri seeneperekondades on suurem kultuurist saadud tulemuste puhul ja väiksem mass-sekvneerimise tulemusena. See tuleneb tõenäoliselt sellest, et mass-sekvneerimisel on mõned bakteriperekonnad oluliselt arvukamad, kui teised. Mõlemal tuvastusmeetodil on Shannon-Wiener'i indeks kõrgeim perekonnas *Russula* ja kuna ka konkreetne seeneliik mõjutab bakterikoosluse varieeruvust statistiliselt oluliselt ning perekonnas *Russula* oli uurimisse kaasatud kõige rohkem erinevaid liike, siis kõrgem indeks võibki tuleneda erinevate pilvikuliikide suuremast arvust (vt Tabel 6).

4.2 Kandseente viljakehade bakterikooslusi mõjutavad tegurid

Analüüsi seeneperekonna ja kasvukohatüübi mõju puhaskultuuris kasvanud arvukamate bakteritaksonite esinemisele viljakehades. Kõigi bakteritaksonite puhul, välja arvatud perekond *Serratia*, ilmnes, et seeneperekonnaval on statistiliselt oluline mõju sellele, kas viljakeha asustab teatud bakteritakson või mitte. Warmink jt (2009) on oma töös leidnud, et mõned bakterid, kes asustavad seente viljakehade alla jäävat mükosfääri, on „universaalsed fungifiilid” ja teised jällegi „spetsiifilised fungifiilid”. Sama teooria võib kehtida ka viljakehade sees leiduvate bakterite kohta. Perekond *Serratia* võib olla näiteks üks nendest „universaalsetest fungifiilidest”, kelle olemasolu konkreetne seeneliik või seeneperekond ei mõjuta. See võib selgitada ka asjaolu, et perekond *Serratia* kujunes mass-sekvneerimisel suure ülekaaluga perekonnaks. Kui näiteks jätta perekonna *Serratia* osakaalud mass-sekvneerimise tulemuste vaatlemisel arvestamata, siis oleks ka mass-sekvneerimisel saadud andmete põhjal igas seeneperekonnas ülekaalus samad bakteriperekonnad, mis kultuuris kasvatamisel saadud tulemuste põhjal (vt. Joonis 4, 9). Ka kultuurist ja mass-sekvneerimisel saadud andmete liitmisel tulid bakterikoosluse varieeruvust mõjutavate teguritena oluliseks nii seeneperekonna mõju ($p=0,004$), kui ka seeneliigi mõju ($p=0,001$). Kasvukohatüübi mõju suuremate bakterirühmade olemasolule seente viljakehades ühelgi juhul statistiliselt oluline ei olnud. Kuna on leitud, et seen mõjutab mükosfääri bakterikooslust tugevalt ja see erineb oluliselt ümbritseva mulla bakterikooslusest (Warmink jt 2009), siis on igati loogiline ka see, et konkreetne seeneliik või seeneperekond mõjutab viljakeha sisemust asutavat bakterikooslust. Seda enam, et ilmselt on ikkagi ümbritsev muld see lähtekooslus, kust bakterid viljakehadesse jõuavad. Bakterikoosluse varieeruvus sõltub tõenäoliselt sellest, et milliseid ühendeid seen sisaldab ja millised bakterid on neid võimelised kasutama või taluma, näiteks männiheinik inhibeerib tugevalt mõningate bakterite kasvu ümbritsevas mükosfääris (Kataoka jt 2012). Warmink jt (2009) on oma töös leidnud, et „universaalsed fungifiilid” kasutavad kõik ühesuguseid seente poolt vabastatavaid süsinikühendeid, aga „spetsiifilistel fungifiilidel” on spetsiifilisemad süsinikühendid, mida nad omastada suudavad ja mis vabanevad vaid teatud seeneliikide või seeneperekondade kudedest. Seente poolt eritatavate sekundaarsete metaboliitide olulist mõju bakterikoosluse varieeruvusele on välja pakkunud Cardinale jt (2006) oma samblike kohta avaldatud töös. Seega toetab käesolev

töö varasemaid oletusi, et peremeesseen mõjutab kõige enam viljakeha asutava bakterikoosluse mitmekesisust.

4.3 Bakteritaksonite võrdlus varasemalt tuvastatud seenebakteritega

Üldiselt on paljusid käesolevas töös tuvastatud bakteriliike ja bakteriperekondi seentega või seenkomponendiga seotult tuvastatud ka varem. Mõlema meetodiga tuvastati seente viljakehadest kõige arvukamatena perekondi *Pseudomonas*, *Burkholderia* ja *Serratia*. Kultuuris väljakasvanud bakteriperekondade hulgas olid kõige arvukamad perekonnad *Burkholderia* (30%) ja *Pseudomonas* (34%), mass-sekveneerimise tulemusena aga perekond *Serratia* (43%). Käesolevas töös on perekonna *Lactarius* viljakehades kõige levinum bakteriperekond *Burkholderia* ja seda nii kultuurist, kui mass-sekvneerimisel saadud tulemuste põhjal. Varasemalt on leitud, et perekonnad *Pseudomonas* ja *Burkholderia* domineerivad ka mükoriisaga seotud bakterite hulgas (Bonfante jt 2009). Perekonda *Pseudomonas* on varasemalt isoleeritud ka kandseentest, näiteks kuldtatiku viljakehadest (Dahm jt 2005) ja mitmete kultiveeritavate seeneliikide, nagu aedšampinjoni (*Agaricus bisporus*), šiiitake (Lentinula edodes) ja austerserviku (*Pleurotus ostreatus*) viljakehadest (Reyes jt 2004). Samuti on perekonda *Pseudomonas* leitud veel mitmest trühvliigist (Sbrana jt 2002, Barbieri jt 2007) ja kukeseenest (*Cantharellus cibarius*) (Dahm jt 2005). Perekonda *Burkholderia* on tuvastatud ektomükoriisadest (Sbrana jt 2002) ja seene viljakeha alla ja lähiümbrusesse jäävast mullast ehk mükosfäärist (Kataoka jt 2012) ning samblikest (Grube jt 2009a, Grube jt 2009b). Leitud on, et bakteriperekondade *Burkholderia* ja *Pseudomonas* kooslused erinevad samblikuliikide vahel (Grube jt 2009a). Ka männi (*Pinus sylvestris*) ja männiriisika vahel moodustunud ektomükoriisast on leitud, et domineerivad bakteriperekonnad *Pseudomonas* ja *Burkholderia*. Eriti suur on just perekonna *Burkholderia* arvukus mükoriissel juurel võrreldes ilma mükoriisata juure osaga (Poole jt 2001) ja nagu eelpool mainitud on ka käesolevas töös perekonna *Lactarius* viljakehades kõige levinum bakteriperekond *Burkholderia*.

Ka mitmeid vähemarvukadena esinenud bakteriperekondi on varasemalt seentega seoses tuvastatud. Näiteks perekonda *Collimonas*, mida käesolevas töös leiti varieeruva riisika (*Lactarius quieticolor*) viljakehast, on varem leitud mullaseente hüüfidelt (Boer jt 2004). Samblikest väljakasvatatud bakteriperekondadest kattuvad käesolevas töös tuvastatutega

perekonnad *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Luteibacter*, *Methylobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas* ja *Sphingomonas* (Grube jt 2009a, Grube jt 2009b), kuigi käesolevas töös on perekonnad *Acinetobacter* ja *Methylobacterium* tuvastatud ainult mass-sekveneerimise tulemusel ja mitte kultuurist.

Käesolevas töös on uuritud seente viljakehadest leitud hulganisti sugukonda *Enterobacteriaceae* kuuluvaid perekondi, nagu *Rahnella*, *Serratia*, *Ewingella*, *Rouxiella* ja *Enterobacter*. Selle sugukonna esindajad, perekonnad *Enterobacter*, *Ewingella* ja *Rahnella*, olid valdavalt ka kukeseenest puhaskultuuri eraldatud bakterite hulgas (Kumari jt 2013). Liikidest leiti nii nimetatud kui käesolevas töös liike *Ewingella americana*, *Pseudomonas brenneri* ja *Pseudomonas tolaasii*.

Peaaegu kõikidest seeneperekondadest leiti liike *Rahnella aquatilis* ja *Pseudomonas poae*, mida Warmink jt (2009) on nimetanud „universaalseks fungifiilideks”. Samblike mikroobikooslust uurides on Cardinale jt (2006) tuvastanud teiste seas liike *Burkholderia sordidicola*, *Burkholderia phenazinium*, *Luteibacter rhizovicina* ja *Staphylococcus epidermidis*, keda kõiki leiti ka selles töös seente viljakehadest.

Käesolevas töös on isoleeritud liikide hulgas esindatud ka liigid *Pseudomonas poae* ja *Pseudomonas veronii*, kellel on varasemate tööde põhjal leitud positiivne mõju seene *Agaricus bisporus* viljakeha arengule, kuna nad asustavad kasvusubstraati ja metaboliseerivad C8 ühendeid (Noble jt 2009).

Tuvastati ka selliseid bakteriliike ja bakteriperekondi, keda varasemalt ei ole seentega seotuna leitud. Kultuurist isoleeritud bakterite hulgast olid seesugused perekonnad *Rouxiella*, *Stenotrophomonas*, *Pandoraea*, *Aranicola*, *Frondihabitans*, *Pseudochrobactrum* ja *Dyella* ning seesugused liigid on märgitud lisas 1, vastava ülaindeksiga. Mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteriperekondadest ei ole varasemalt seentega seotuna tuvastatud perekondi *Alkalibacterium*, *Anaerococcus*, *Brachybacterium*, *Granulicella*, *Brevundimonas*, *Rothia*, *Rhodobacter*, *Tatumella*, *Komagataeibacter*, *Mucilaginibacter*, *Novosphingobium*, *Shewanella*, *Streptococcus* ja *Haemophilus*.

4.4 Tuvastatud bakteritaksonite omadused ja võimalikud funktsioonid

Otsustades varasemalt avaldatud tööde põhjal, kus on kirjeldatud tuvastatud bakteriliikide ja perekondade omadusi, võib väita, et enamik neist on aeroobid või fakultatiivsed anaeroobid. Siiski on mass-sekveneerimisel tuvastatud ka perekondi, kes on ranged anaeroobid, nagu perekonnad *Anaerococcus* (Ezaki jt 2001), *Bacteoides*, *Propionibacterium* ja ka perekonnas *Streptococcus* on mõned ranged anaeroobid. Suurel määral on kultuurist tuvastatud bakterite puhul tegemist liikuvate bakteritega (35/45). Seevastu enamik nendest perekondadest, keda tuvastati vaid mass-sekveneerimisel, on mitteliikuvad bakterid (16/23) ning lisaks on veel kaks perekonda, kuhu kuulub nii liikuvaid, kui mitteliikuvaid liike. Põhjus võib olla selles, et kultuuris eraldamise meetodil eraldusid hüüfide küljest kergemini just liikumisvõimet omavad baktereid. Mõlema tuvastusmeetodi puhul leitud bakterite optimaalne kasvutemperatuur jääb 30°C ümbrusesse ja enamik nendest on tavalised mulla- ja veebakterid.

Mitmeid selles töös tuvastatud liike ja perekondi on leitud ka seotuna taimedega. Näiteks taimede juurenoodulitest leitud liikidest on tuvastatud liigid *Rahnella aquatilis* (<http://www.tgw1916.net/>), *Rhizobium rhizogenes* (Murugesan jt 2010), *Burkholderia sordidicola* (Palaniappan jt 2010), *Burkholderia dilworthii* (De Meyer jt 2014) ja *Dyella marensis* (Palaniappan jt 2010). Liiki *Pseudomonas koreensis* on varem tuvastatud sambla vedelkultuurist, kus ta seob lämmastikku (Tani jt 2011). Kuna ka juurenoodulites leiduvad bakterid tegelevad sageli lämmastiku fikseerimisega (Boone jt 2005), siis annab eelmainitud liikide olemasolu kaudse vihje, et need liigid võivad olla seotud lämmastiku fikseerimisega ka seente viljakehades. Lisaks tuvastati ka mass-sekveneerimisel bakteriperekondi, millesse kuulub lämmastikufikseerimisvõimega liike, nendeks olid perekonnad *Klebsiella* (<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/319927/>) ja *Methylobacterium*.

Mõningaid tuvastatud liike on varasemalt leitud taimedest endofüütidena, nendeks on liigid *Variovorax paradoxus* (Han jt 2013), *Burkholderia phytofirmans* (Sessitsch jt 2005), *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas psychrophila* (Jiang jt 2012), *Stenotrophomonas rhizophila* (Wolf jt 2002), *Staphylococcus pasteurii* (<http://www.tgw1916.net/>) ja sambla gametofüütidest on isoleeritud liigid *Burkholderia bryophila* ja *B. megapolitana* (Vandamme jt 2007).

Suur osa kultuurist isoleeritud bakteriliike on seenevastaste omadustega. Taoliste hulgas on käesolevas töös isoleeritud liigid *Burkholderia phytofirmans* (Sessitsch jt 2005), *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas koreensis* (Tani jt 2011), *Serratia liquefaciens*, *Stenotrophomonas rhizophila* (Wolf jt 2002), *Burkholderia bryophila* ja *B. megapolitana* (Vandamme jt 2007).

Mitmed nii kultuurist isoleeritud liigid, kui mass-sekveneerimisel tuvastatud perekonnad, on varasemate tööde põhjal võimelised lagundama või omastama ka keerulisi, komplekseid ja toksilisi ühendeid. Toksilistest ainetest võib liik *Variovorax paradoxus* näiteks omastada seente viljakehades kaadmiumit (Hryniewicz jt 2015) ja *Pseudomonas psychrophila* on saastunud pinnases kasvavates taimedes võimeline lagundama sulfametoksasooli (Jiang jt 2012). Liigid *Burkholderia fungorum* (Coenye jt 2001) ja *Burkholderia sordidicola* (Lim jt 2003) võivad lagundada mitmeid aroomaatseid ühendeid. Perekond *Shewanella* võib aga redutseerida ja saada energiat nii uraanist, mangaanist, kui ka vanaadiumist ja perekond *Rhodanobacter* lagundab pestitsiidi lindaan (Nalin jt 1999). Kuna mõlema tuvastusviisi puhul on isoleeritud baktereid, kes on võimelised lagundama keerulisi ja toksilisi ühendeid, võibki seente viljakehades esinevate mõningate bakterite ülesandeks olla ka viljakehasse kogunevate toksiliste ainete lagundamine. On oletatud, et ka samblikud võivad bakteritele mitmekesisest elupaika pakkuda just seetõttu, et koguvad endasse raskemetalle ja muid toksilisi komponente (Grube jt 2009b), mida bakterid võivad kasutada.

Üheks funktsionaalseks rühmaks kultuuris tuvastatud bakterite hulgas võib pidada ka seente viljakehadel haigussümpptomeid esilekutsuvaid baktereid. Nendeks on antud juhul liigid *Ewingella americana* (Lee jt 2009a, Reyes jt 2004) ja *Pseudomonas tolaasii* (Saxon jt 2014), kes on kirjanduse põhjal tuntud seente haigustekitajad. Lisaks on ka perekonna *Collimonas* esindajad tuntud mükofaagidena, kes võivad seeni kahjustada (Boer jt 2004). Mass-sekveneerimisel tuvastati veel ka perekond *Janthinobacter*, mille kahest liigist üks põhjustab aedšampinjonil pehmemädanikku (Lincoln jt 1999).

Nendel perekondadel, mida on tuvastatud vaid mass-sekveneerimisel, paistab olevat päris mitmeid spetsiifilisi nõudlusi, näiteks pH, anaeroobse keskkonna, spetsiifiliste kasvufaktorite või kasvuperioodi pikkuse suhtes, mis tõenäoliselt ongi ka põhjuseks miks

neid kultuuris väljakasvatada ei õnnestunud. Näiteks perekonda *Alkalibacterium* kuuluvad ranged alkalifiilid (Ntougias and Russell 2001), perekondadesse *Bacteroides* ja *Anaerococcus* ranged anaeroobid (Ezaki jt 2001). Perekonna *Corynebacterium* liigid on samuti väga nõudlikud ja kasvavad aeglaselt ka rikkal söötmel ning ka perekondades *Mycobacterium* ja *Propionibacterium* on vähemalt osad liigid väga aeglase kasvuga. Perekonna *Granulicella* liigid on jällegi hoopis ranged atsidoofiilid (optimaalne pH 3,8-4,5), samuti on atsidotolerantne ka perekond *Mucilaginibacter* (optimaalne pH 6,0-6,5), kes eelistab samuti pigem madalamat pH-d (Pankratov jt 2007, 2010). Perekond *Brevundimonas* vajab kasvufaktoritena pantotenaati, biotiini ja tsüanokobalamiini (Segers jt 1994).

Kokkuvõte

Bakterite mitmekesisust seente viljakehades ja seda mõjutavaid tegureid on vähe uuritud ja seetõttu käsitlebki käesolev magistritöö eelmainitud teemasid. Bakterite tuvastamisel kasutati paralleelselt nii kultuuri viimise meetodit, kui ka mass-sekveneerimist. Mass-sekveneerimist ei ole varem seente viljakehi asustava bakterikoosluse tuvastamiseks kasutatud.

Töö tulemusena leiti, et bakterikoosluse varieeruvust kandseente viljakehades mõjutab peamiselt seene taksonoomiline kuuluvus, seda nii perekonna, kui liigi tasemel. Samas on ka baktereid, näiteks perekond *Serratia*, kelle esinemine ei sõltu seenetaksonist. Kasvukohatüübil ei ilmnenud statistiliselt olulist mõju bakterikooslustele seente viljakehades.

Mõlema tuvastusmeetodi tulemusel leiti, et kõige suurem hulk baktereid kuulus klassi *Gammaproteobacteria* ja kolm liigirikkamat seltsi olid *Pseudomonadales*, *Burkholderiales* ja *Enterobacteriales*. Mass-sekveneerimisel tuvastatud bakteritest kuulus kõige suurem hulk baktereid seltsi *Enterobacteriales* ja kultuuris kasvatatud bakteritest seltsi *Pseudomonadales*. Bakteriklasside osakaalud eri seeneperekondades olid mõlema meetodi puhul sarnased, aga bakteriperekondade ja bakteriseltside tasemel oli erinevusi. Nimelt oli mass-sekveneerimisel seeneperekondades *Russula*, *Suillus* ja *Amanita* ülekaalus perekond *Serratia* ja selts *Enterobacteriales*. Kultuuris kasvatamisel oli seeneperekondades *Russula* ja *Amanita* ülekaalus perekond *Pseudomonas* ja seeneperekonnas *Suillus* hoopis perekond *Burkholderia*. Perekonna *Serratia* puhul võib olla tegemist „universaalse fungifiiliga”, keda leidub väga erinevates seeneperekondades ja kellel seenespetsiifilisust ei esine. Seeneperekonnas *Lactarius* olid siiski mõlema tuvastusmeetodi puhul kõige arvukamad perekond *Burkholderia* ja selts *Burkholderiales*.

Üldiselt leiti mass-sekveneerimise tulemusel kõigil taksonoomilistel tasemetel suurem hulk erinevaid baktereid, kui kultuurist eraldamisel. Samas leiti aga ka kultuurist isoleerimise teel perekonna ja seltsi tasemel selliseid bakteritaksoneid, mida mass-sekveneerimisel ei olnud tuvastatud. Seega on bakterite mitmekesisuse uurimiseks ja

eriti võimalike funktsioonide selgitamiseks oluline kasutada nii bakterite kultuuri viimist, kui ka mass-sekvneerimist.

Kirjanduse põhjal võib oletada, et võimalikeks funktsioonideks, mida tuvastatud bakterid seentes täita võivad, on patogeenide tõrjumine, raskemetallide või toksiliste ühendite kõrvaldamine ja võimalik, et ka lämmastiku fikseerimine, kuid tegelike funktsioonide kindlaks tegemine vajab edasisi uuringuid.

Mari Pent

Summary

The bacterial diversity in fungal fruitbodies and factors which affect it are relatively unexplored and because of that the current study focused on these topics. The culture-dependent method as well as mass-sequencing, using Illumina Miseq technology, were used in parallel for characterising the bacterial communities. Never before has the mass-sequencing methods been used for identification of bacterial communities in fungal fruitbodies.

This study reports for the first time that the diversity of bacterial communities in sporocarps of basidiomycetes depends in the first place from fungal identity. Among common bacterial taxa presence of only *Serratia* was found not to be influenced by fungal taxa. Habitat type had no statistically significant effect on the bacterial communities of fungal sporocarps.

On the basis of both methods, it was found that the largest number of bacteria belong to the *Gammaproteobacteria*, with three of the largest orders being *Burkholderiales*, *Pseudomonadales* and *Enterobacteriales*. Based on the results of mass-sequencing the largest number of bacteria belonged to the *Enterobacteriales* whereas member of the *Pseudomonadales* was the most frequently detected in pure cultures. The two detection methods reveals similar proportion of bacterial classes in each fungal genus with differences observed at the level of bacterial orders and classes. Namely, mass-sequencing revealed *Serratia* and the *Enterobacteriales* as prevailing bacteria in the fungal genera *Russula*, *Suillus* and *Amanita*. However, among bacterial cultures isolated from fruitbodies *Pseudomonas* was prevailing in fungal genera *Russula* and *Amanita* and the genus *Burkholderia* in *Suillus*. The genus *Serratia* might represent a so-called „universal fungiphile”, found in various fungal genera, having no specificity to the fungus. However, by using both detecting methods, *Burkholderia* and the *Burkholderiales* were the most numerous bacteria in the fruitbodies of *Lactarius*.

In general, the mass-sequencing method revealed a greater number of bacteria at all taxonomical level than observed from pure cultures. However, some bacterial taxa were detected only in culture. So, it would be really important to use culturing as well as the mass-sequencing methods to find out bacterial diversity and its the possible functions in fungal fruitbodies.

On the basis of literature it can be assumed, that the possible functions, which these bacteria perform in fungal fruitbodies include suppression of pathogens, removal of heavy metals or toxic compounds and possibly also nitrogen fixation, but the identification of actual functions requires further research.

Tänuavaldused

Soovin tänada oma juhendajat Kadri Põldmaad igakülgse abi eest ja kõiki mükoloogia õppetooli abivalmis inimesi. Samuti tänan Toomas Tammarut ja Mohammad Bahrami abi eest statistiliste analüüside teostamisel.

Kasutatud kirjandus

Artiklid:

- Baida, N., Yazourh, A., Singer, E., Izard, D. 2001. *Pseudomonas brenneri* sp. nov., a new species isolated from natural mineral waters. Res. Microbiol. 152: 493-502.
- Bandara, W. M. M. S., Seneviratne, G., Kulasooriya. 2006. Interactions among endophytic bacteria and fungi: effects and potentials. J. Biosci. 31: 645-650.
- Barbieri, E., Bertini, L., Rossi, I., Ceccaroli, P., Saltarelli, R., Guidi, C., Zambonelli, A., Stocchi, V. 2005. New evidence for bacterial diversity in the ascoma of the ectomycorrhizal fungus *Tuber borchii* Vittad. FEMS Microbiology Letters 247: 23-35.
- Barbieri, E., Ceccaroli, P., Salterelli, R., Guidi, C., Potenza, L., Basaglia, M., Fontana, F., Baldan, E., Casella, S., Ryahi, O., Zambonelli, A., Stocchi, V. 2010. New evidence for nitrogen fixation within the Italian white truffle *Tuber magnatum*. Fungal Biology. 114: 936-942.
- Barbieri, E., Guidi, C., Bertaux, J., Frey-Klett, P., Garbye, J., Ceccaroli, P., Saltarelli, R., Zambonelli, A., Stochhi, V. 2007. Occurrence and diversity of bacterial communities in *Tuber magnatum* during truffle maturation. Environmental Microbiology. 9: 2234-2246.
- Behrendt, U., Ulrich, A., Schumann, P. 2003. Fluorescent pseudomonads associated with the phyllosphere of grasses; *Pseudomonas trivialis* sp. nov., *Pseudomonas poae* sp. nov. and *Pseudomonas congelans* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 53: 1461-1469.
- Behrendt, U., Ulrich, A., Schumann, P., Meyer, J.-M., Spröer, C. 2007. *Pseudomonas lurida* sp. nov., a fluorescent species associated with the phyllophere of grasses. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 57: 979-985.
- Bending, G. D., Poole, E. J., Whipps, J. M., Read, D. J. 2002. Characterisation of bacteria from *Pinus sylvestris*-*Suillus luteus* mycorrhizas and their effects on root-fungus interactions and plant growth. FEMS Microbiology Ecology. 39: 219-227.

- Bertaux, J., Schmid, M., Prevost-Boure, N. C., Churin, J. L., Hartmann, A., Garbaye, J., Frey-Klett, P. 2003. In Situ Identification of Intracellular Bacteria Related to *Paenibacillus* spp. in the Mycelium of the Ectomycorrhizal Fungus *Laccaria bicolor* S238N. *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 4243-4248.
- Boer, de W., Leveau, J. H. J., Kowalchuk, G. A., Gunnewiek, P. J. A. K., Abeln, E. C. A., Figge, M. J., Sjollem, K., Janse, J. D., Veen, J. A. 2004. *Collimonas fungivorans* gen. nov., sp. nov., a chitinolytic soil bacterium with the ability to grow on living fungal hyphae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54: 857-864.
- Boer, W., Folman, L. B., Summerbell, R. C., Boddy, L. 2005. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews*. 29: 795-811.
- Bonfante P., Anca I.-A. 2009. Plants, Mycorrhizal Fungi and Bacteria: A Network of Interactions. *Annu. Rev. Microbiol.* 63: 363-383.
- Carbajal-Rodriguez, I., Stöveken, N., Satola, B., Wübbeler, J. H., Steinbüchel, A. 2011. Aerobic Degradation of Mercaptosuccinate by the Gram-Negative Bacterium *Variovorax paradoxus* Strain B4. *Journal of Bacteriology*. 2011. 527-539.
- Cardinale, M., Puglia, A. M., Grube, M. 2006. Molecular analysis of lichen-associated bacterial communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 57: 484-495.
- Chesneau, O., Morvan, A., Grimont, F., Labischinski, H., El Solh, N. 1993. *Staphylococcus pasteuri* sp. nov., Isolated from Human, Animal, and Food Specimens. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 43: 237-244.
- Cho, Y. S., Weon, H. Y., Joh, J. H., Lim, J. H., Kim, K. Y., Son, E. S., Lee, C. S., Cho, B. G. 2008. Effect of Casing Layer on Growth Promotion of the Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Mycobiology*. 36: 40-44.
- Cho, Y.-S., Kim, J.-S., Crowley, D. E., Cho, B.-G. 2003. Growth promotion of the edible fungus *Pleurotus ostreatus* by fluorescent pseudomonads. *FEMS Microbiology Letters*. 218: 271-276.
- Chou, Y.-J., Chou, J.-H., Lin, K.-Y., Lin, M.-C., Wei, Y.-H., Arun, A. B., Young, C.-C., Chen, W.-M. 2008. *Rothia terrae* sp. nov. isolated from soil in Taiwan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 58: 84-88.

- Citterio, B., Malatesta, M., Battistelli, S., Marcheggiani, F., Baffone, W., Saltarelli, R., Stocchi, V., Gazzanelli, G. 2001. Possible involvement of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillaceae* in structural modifications of *Tuber borchii* fruit bodies. *Can. J. Microbiol.* 47: 264-268.
- Coenye, T., Falsen, E., Hoste, B., Ohlen, M., Goris, J., Govan, J.R. W., Gillis, M., Vandamme, P. 2000. Description of *Pandoraea* gen. nov. with *Pandoraea apista* sp. nov., *Pandoraea pulmonicola* sp. nov., *Pandoraea pnomenusa* sp. nov., *Pandoraea sputorum* sp. nov. and *Pandoraea norimbergensis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 50: 887-899.
- Coenye, T., Laevens, S., Willems, A., Ohlen, M., Hannant, W., Govan, J. R. W., Gillis, M., Falsen, E., Vandamme, P. 2001. *Burkholderia fungorum* sp. nov. and *Burkholderia caledonica* sp. nov., two new species isolated from the environment, animals and human clinical samples. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 51: 1099-1107.
- Collins, M. D., Brown, J., Jones, D. 1988. *Brachybacterium faecium* gen. nov., sp. nov., a Coryneform Bacterium from Poultry Deep Litter. *International Journal of Systematic Bacteriology.* 38: 45-48.
- Dahm, H., Wrotniak, W., Strzelczyk, E., Li, C.-Y., Bednarska, E. 2005. Diversity of culturable bacteria associated with fruiting bodies of ectomycorrhizal fungi. *Phytopathol. Pol.* 38: 51-62.
- De Boer, W., Leveau, J. H. J., Kowalchuk, G. A., Klein Gunnewiek, P. J. A., Abeln, E. C. A., Figge, M. J., Sjollema, K., Janse, J. D., Van Veen, J. A. 2004. *Collimonas fungivorans* gen. nov., sp. nov., a chitinolytic soil bacterium with the ability to grow on living fungal hyphae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 54: 857-864.
- De Meyer, S. E., Cnockaert, M., Ardley, J. K., Van Wyk, B.-E., Vandamme, P. A., Howieson, J. G. 2014. *Burkholderia dilworthii* sp. nov., isolated from *Lebeckia ambigua* root nodules. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 64: 1090-1095.
- Elomari, M., Coroler, L., Hoste, B., Gillis, M., Izard, D., Leclerc, H. 1996. DNA Relatedness among *Pseudomonas* Strains Isolated from Natural Mineral Waters

- and Proposal of *Pseudomonas veronii* sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology. 46: 1138-1144.
- Ezaki, T., Kawamura, Y., Li, N., Li, Z.-Y., Zhao, L., Shu, S.-E. 2001. Proposal of the genera *Anaerococcus* gen. nov., *Peptoniphilus* gen. nov. and *Gallicola* gen. nov. for members of the genus *Peptostreptococcus*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 51: 1521-1528.
 - Fierer, N., Jackson, R. B., 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. PNAS. 103: 626-631.
 - Frey-Klett, P., Garbaye, J., Tarkka, M. 2007. *Transley review*. The mycorrhiza helper bacteria revisited. New Phytologist. 176: 22-36.
 - Galtier, N., Gouy, M., Gautier, C. 1996. SeaView and Phylo_win, two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. Computer Applications in the Biosciences. 12: 543-548.
 - Gavini, F., Ferragut, C., Izard, D., Trinel, P. A., Leclerc, H., Lefebvre, B., Mossel, D. A. A. 1979. *Serratia fonticola*, a New Species from Water. International Journal of Systematic Bacteriology. 29: 92-101.
 - Georg, L. K., Brown, J. M. 1967. *Rothia*, gen. nov. an aerobic genus of the family Actinomycetaceae. International Journal of Systematic Bacteriology. 17: 79-88.
 - Gephart, P., R.G. E. Murray, R. N. Costilow, E.W., Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg, and G. B Phillips. 1981. Manual of Methods for General Bacteriology. - ASM Press, Washington D.C.
 - Grimont, P. A. D., Grimont, F., Sarr, M. P. 1978. *Serratia proteamaculans* (Paine and Stansfield) comb. nov., a Senior Subjective Synonym of *Serratia liquefaciens* (Grimes and Hennerty) Bascomb et al. International Journal of Systematic Bacteriology. 28: 503-510.
 - Grube, M., Berg, G. 2009a. Microbial consortia of bacteria and fungi with focus on the lichen symbiosis. Fungal Biology Reviews. 23: 72-85.
 - Grube, M., Cardinale, M., Castro Jr, J. V., Müller, H., Berg, G. 2009b. Species-specific structural and functional diversity of bacterial communities in lichen symbioses. The ISME Journal. 3: 1105-1115.

- Han, J.-I., Spain, J. C., Leadbetter, J. R., Ovchinnikova, G., Goodwin, L. A., Han, C. S., Woyke, T., Davenport, K. W., Orwin, P. M. 2013. Genome of the Root-Associated Plant Growth-Promoting Bacterium *Variovorax paradoxus* Strain EPS. Genome Announcements. 1: 1-2.
- Harrell, L. J., Cameron, M. L., O'Hara, C. M. 1989. *Rahnella aquatilis*, an Unusual Immunodeficiency Syndrome. Journal of Clinical Microbiology. 27: 1671-1672.
- Hiiesalu, I. 2014. Mullaseente ja ripsloomade elurikkuse mustrid niiskusgradiendil totainevaestes kasvukohatüüpides. Magistritöö. Mükoloogia õppetool. Ökoloogia- ja Maateaduste Instituut. Loodus-ja Tehnoloogiateaduskond. Tartu Ülikool.
- Hildebrand, F., Tadeo, R., Voigt, A. Y., Bork, P., & Raes, J. 2014. LotuS: an efficient and user-friendly OTU processing pipeline. Microbiome. 2: 30.
- Hill, T. C. J., Moffett, B. F., DeMott, P. J., Georgakopoulos, D. G., Stump, W. L., Franc, G. D. 2014. Measurement of Ice Nucleation-Active Bacteria on Plants and in Precipitation by Quantitative PCR. Applied and Environmental Microbiology. 80: 1256-1267.
- Hodgkinson, B. P., Gottel, N. R., Schadt, C.W., Lutzoni, F. 2012. Photoautotrophic symbiont and geography are major factors affecting highly structured and diverse bacterial communities in the lichen microbiome. Environmental Microbiology. 14: 147-161.
- Hoffmann, H., Stindl, S., Stumpf, A., Mehlen, A., Monget, D., Heesemann, J., Schleifer, K. H., Roggenkamp, A. 2005. Description of *Enterobacter ludwigii* sp. nov., a novel *Enterobacter* species of clinical relevance. Systematic and Applied Microbiology. 28: 206-212.
- Hollis, D. G., Hickman, F. W., Fanning, G. R., Farmer III, J. J., Weaver, R. E., Brenner, D. J. 1981. *Tatumella ptyseos* gen. nov., sp. nov., a Member of the Family *Enterobacteriaceae* Found in Clinical Specimens. Journal of Clinical Microbiology. 14: 79-88.
- Hormaeche, E. and Edwards, P. R. 1960. A Proposed Genus *Enterobacter*. International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy. 10: 71-74.
- Hryniewicz, K., Zloch, M., Kowalkowski, T., Baum, C., Niedojadlo, K., Buszewski, B. 2015. Strain-specific bioaccumulation and intracellular distribution of Cd²⁺ in

- bacteria isolated from the rhizosphere, ectomycorrhizae, and fruitbodies of ectomycorrhizal fungi. *Environ Sci Pollut Res.* 22: 3055-3067.
- Huang, S., Sheng, P., Zhang, H. 2012. Isolation and Identification of Cellulolytic Bacteria from the Gut of *Holotrichia parallela* Larvae (Coleoptera: Scarabaeidae). *Int. J. Mol. Sci.* 13: 2563-2577.
 - Huang, Y., Niu, B., Gao, Y., Fu, L., Li, W. 2010. CD-HIT Suite: a web server for clustering and comparing biological sequences. *Bioinformatics Applications Note.* 26: 680-682.
 - Hulsen, T., Vlieg, de Jacob., Alkema, W. 2008. BioVenn – a web application for the comparison and visualization of biological lists using area-proportional Venn diagrams. *BMC Genomics.* 9: 488.
 - Höppener-Ogawa, S., De Boer, W., Leveau, J. H. J., Van Veen, J. A., De Brandt, E., Vanlaere, E., Sutton, H., Dare, D. J., Vandamme, P. 2008. *Collimonas arenae* sp. nov. and *Collimonas pratensis* sp. nov., isolated from (semi-)natural grassland soils. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 58: 414-419.
 - Izard, D., Gavini, F., Trinel, P. A., Leclerc, H. 1981. Deoxyribonucleic Acid Relatedness Between *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter amnigenus* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology.* 31: 35-42.
 - Izumi, H., Anderson, I. C., Alexander, I. J., Killham, K., Moore, E. R. B. 2006. Diversity and expression of nitrogenase genes (nifH) from ectomycorrhizas of Corsican pine (*Pinus nigra*). *Environmental Microbiology.* 8: 2224-2230.
 - Jayasinghearachchi, H. S., Seneviratne, G. 2004. Can mushrooms fix atmospheric nitrogen? *J. Biosci.* 29: 293-296.
 - Jiang, B., Cui, D., Li, A., Gai, Z., Ma, F., Yang, J., Ren, N. 2012. Genome Sequence of a Cold-Adaptable Sulfamethoxazole-Degrading Bacterium, *Pseudomonas psychrophila* HA-4. *Journal of Bacteriology.* 194: 5721.
 - Johansen, J. E., Binnerup, S. J., Kroer, N., Molbak, L. 2005. *Luteibacter rhizovicius* gen. nov., sp. nov., a yellow-pigmented gammaproteobacterium isolated from the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 55: 2285-2291.

- Kageyama, A., Takahashi, Y. Ōmura, S. 2006. *Microbacterium deminutum* sp. nov., *Microbacterium pumilum* sp. nov. and *Microbacterium aoyamense* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 56: 2113-2117.
- Kataoka, R., Siddiqui, Z. A., Kikuchi, J., Ando, M., Sriwati, R., Nozaki, A., Futai, K. 2012. Detecting Nonculturable Bacteria in the Active Mycorrhizal Zone of the Pine Mushroom *Tricholoma matsutake*. The Journal of Microbiology. 50: 199-206.
- Kim, S.-J., Lim, J.-M., Ahn, J.-H., Weon, H.-Y., Hamada, M., Suzuki, K.-I., Ahn, T.-Y., Kwon, S.-W. 2013. Description of *Galbitalea soli* gen. nov., sp. nov., and *Frondehabitans sucicola* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 64: 572-578.
- Kumari, D., Reddy, M. S., Upadhyay, R. C. 2013. Diversity of cultivable bacteria associated with fruiting bodies of wild Himalayan *Cantharellus* spp. Ann Microbiol. 63: 845-853.
- Kwon, S. W., Kim, J. S., Park, I. C., Yoon, S. H., Park, D. H., Lim, C. K., Go, S. J. 2003. *Pseudomonas koreensis* sp. nov., *Pseudomonas umsongensis* sp. nov. and *Pseudomonas jinjuensis* sp. nov., novel species from farm soils in Korea. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 53: 21-27.
- Kämpfer, P., Falsen, E., Busse, H.-J. 2008. Reclassification of *Pseudomonas mephitica* Claydon and Hammer 1939 as a later heterotypic synonym of *Janthinobacterium lividum* (Eisenberg 1891) De Ley et al. 1978. 58: 136-138.
- Kämpfer, P., Scholz, H., Huber, B., Thumm, K., Busse, H.-J., Maas, E. W., Falsen, E. 2007. Description of *Pseudochrobactrum kiredjianiae* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 57: 755-760.
- Lago, B. D. and Demain, A. L. 1969. Alternative Requirement for Vitamin B₁₂ or Methionine in Mutants of *Pseudomonas denitrificans*, a Vitamin B₁₂-producing Bacterium. J Bacteriol. 99: 347-349.
- Larsen, M. J., Jurgensen, M. F., Harvey, A. E., Ward, J. C. 1978. Dinitrogen fixation associated with sporophores of *Formitopsis pinicola*, *Fomes fomentarius* ja *Echinodontium tinctorium*. Mycologia. LXX: 1217-1221.
- Le Fleche-Mateos, A., Levast, M., Lomprez, F., Arnoux, Y., Andonian, C., Perraud, M., Vincent, V., Ar Gouilh, M., Thiberge, J.-M., Vandenbogaert, M., Diancourt, L.,

- Caro, V., Burguiere, A.-M., Manuguerra, J.-C. 2015. *Rouxiella chameriensis* gen. nov., sp. nov., a new *Enterobacteriaceae* isolated from parenteral nutrition bags. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.
- Lee, C.-J., Jhune, C.-S., Cheong, J.-C., Yun, H.-S., Cho, W.-D. 2009a. Occurrence of Internal Stipe Necrosis of Cultivated Mushrooms (*Agaricus bisporus*) Caused by *Ewingella americana* in Korea. The Korean Society of Mycology. 37: 62-66.
 - Lee, D. W., Lee, S. D. 2009b. *Dyella marensis* sp. nov., isolated from cliff soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 59: 1397-1400.
 - Lee, Y. M., Kim, S.-Y., Jung, J., Kim, E. H., Cho, K. H., Schinner, F., Margesin, R., Hong, S. G., Lee, H. K. 2011. Cultured Bacterial Diversity and Human Impact on Alpine Glacier Cryoconite. The Journal of Microbiology. 49: 355-362.
 - Lee, Y. N. and Koo, C.-D. 2007. Identification of bacteria isolated from diseased Neungee mushroom, *Sarcodon asparatus*. Journal of Basic Microbiology. 47: 31-39.
 - Lee, Y. N., Koo, C.-D. 2007. Identification of bacteria isolated from diseased Neungee mushroom, *Sarcodon aspratus*. Journal of Basic Microbiology. 47: 31-39.
 - Li, C. Y., Castellano, M. A. 1987. *Azospirillum* isolated from within sporocarps of the mycorrhizal fungi *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata* and *Rhizopogon vinicolor*. Trans. Br. Soc. 88: 563-565.
 - Li, C. Y., Hung, L. L. 1987. Nitrogen-fixing (acetylene-reducing) bacteria associated with ectomycorrhizae of Douglas-fir. Plant and Soil. 98: 425-428.
 - Li, C. Y., Massicote, H. B., Moore, L.V.H. 1992. Nitrogen-fixing *Bacillus* sp. associated with Douglas-fir tuberculate ectomycorrhizae. Plant and Soil. 140: 35-40.
 - Li, G.-E., Wu, X.-Q., Ye, J.-R., Hou, L., Zhou, A.-D., Zhao, L. 2013. Isolation and identification of phytate-degrading rhizobacteria with activity of improving growth of poplar and Masson pine. World J Microbiol Biotechnol. 29: 2181-2193.
 - Liba, C. M., Ferrara, F. I. S., Manfio, G. P., Fantinatti-Garboggini, F., Albuquerque, R. C., Pavan, C., Ramos, P. L., Moreira-Filho, C. A., Barbosa, H. R. 2006. Nitrogen-fixing chemo-organotrophic bacteria isolated from cyanobacteria-deprived lichens

- and their ability to solubilize phosphate and to release amino acids and phytohormones. *Journal of Applied Microbiology*. 101: 1076-1086.
- Lim, Y. W., Baik, K. S., Han, S. K., Kim, S. B., Bae, K. S. 2003. *Burkholderia sordidicola* sp. nov., isolated from the white-rot fungus *Phanerochaete sordida*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 53: 1631-1636.
 - Lincoln, S. P., Fermor, T. R., Tindall, B. J. 1999. *Janthinobacterium agaricidamnosum* sp. nov., a soft rot pathogen of *Agaricus bisporus*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 49: 1577-1589.
 - Martinez, A., Torello, S., Kolter, R. 1999. Sliding Motility in Mycobacteria. *Journal of Bacteriology*. 181: 7331-7338.
 - Murugesan, S., Manoharan, C., Vijayakumar, R., Panneerselvam, A. 2010. Isolation and Characterization of *Agrobacterium rhizogenes* from the Root Nodules of Some Leguminous Plants. *International Journal of Microbiological Research*. 3: 92-96.
 - Nalin, R., Simonet, P., Vogel, T. M., Normand, P. 1999. *Rhodanobacter lindanoclasticus* gen. nov., sp. nov., a lindane-degrading bacterium. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 49: 19-23.
 - Noble, R., Dobrovin-Pennington, A., Hobbs, P. J., Pederby, J., Rodger, A. 2009. Volatile C8 compounds and pseudomonads influence primordium formation of *Agaricus bisporus*. *Mycologia*. 101: 583-591.
 - Ntougias, S., Russell, N. J. 2001. *Alkalibacterium olivoapovliticus* gen. nov., sp. nov., a new obligately alkaliphilic bacterium isolated from edible-olive wash-waters. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 51: 1161-1170.
 - Palaniappan, P., Chauhan, P. S., Saravanan, V. S., Anandham, R., Sa, T. 2010. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacterial isolates from root nodule of *Lespedeza* sp. *Biol Fertil Soils*. 46: 807-816.
 - Pankratov, T. A., Dedysh, S. N. 2010. *Granulicella paludicola* gen. nov., sp. nov., *Granulicella pectinivorans* sp. nov., *Granulicella aggregans* sp. nov. and *Granulicella rosea* sp. nov., acidophilic, polymer-degrading acidobacteria from *Sphagnum* peat bogs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 60: 2951-2959.

- Pankratov, T. A., Tindall, B. J., Liesack, W., Dedysh, S. N. 2007. *Mucilaginibacter paludis* gen. nov., sp. nov. and *Mucilaginibacter gracilis* sp. nov., pectin-, xylan- and laminarin-degrading members of the family Sphingobacteriaceae from acidic Sphagnum peat bog. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57: 2349-2354.
- Paul, L. R., Chapman, B. K., Chanway, C. P. 2007. Nitrogen Fixation Associated with *Suillus tomentosus* Tuberculate Ectomycorrhizae on *Pinus contorta* var. *latifolia*. *Annals of Botany*. 99: 1101-1109.
- Peng, A., Liu, J., Gao, Y., Chen, Z. 2013. Distribution of Endophytic Bacteria in *Alopecurus aequalis* Sobol and *Oxalis corniculata* L. from Soils Contaminated by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Plos One*. 8: 1-10.
- Pesciaroli, C., Cupini, F., Selbmann, L., Barghini, P., Fenice, M. 2012. Temperature preferences of bacteria isolated from seawater collected in Kandalaksha Bay, White Sea, Russia. *Polar Biol*. 35: 435-445.
- Poole, E. J., Bending, G. D., Whipps, J. M., Read, D. J. 2001. Bacteria associated with *Pinus sylvestris* – *Lactarius rufus* ectomycorrhizas and their effects on mycorrhiza formation *in vitro*. *New Phytologist*. 151: 743-751.
- Pruesse, E., Quast, C., Knittel, K., Fuchs, M., Ludwig, W., Peplies, J., Glöckner, F. O. 2007. SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. *Nucleic Acids Research*. 35: 7188-7196.
- Reddy, G. S. N. and Garcia-Pichel, F. 2007. *Sphingomonas mucosissima* sp. nov. and *Sphingomonas desiccabilis* sp. nov., from biological soil crusts in the Colorado Plateau, USA. *International Journal of Systemtic and Evolutionary Microbiology*. 57: 1028-1034.
- Reddy, G. S. N., Matsumoto, G. I., Schumann, P., Stackebrandt, E., Shivaji, S. 2004. Psychrophilic pseudomonads from Antarctica: *Pseudomonas antarctica* sp. nov., *Pseudomonas meridiana* sp. nov. and *Pseudomonas proteolytica* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54: 713-719.
- Reyes, J. E., Venturini, M. E., Oria, R., Blanco, D. 2004. Prevalence of *Ewingella americana* in retail fresh cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*, *Lentinula*

- edodes* and *Pleurotus ostreatus*) in Zaragoza (Spain). FEMS Microbiology Ecology. 47: 291-296.
- Satola, B., Wübbeler, J. H., Steinbüchel, A. 2013. Metabolic characteristics of the species *Variovorax paradoxus*. Appl Microbiol Biotechnol. 97: 541-560.
 - Sawada, H., Ieki, H., Oyaizu, H., Matsumoto, S. 1993. Proposal for Rejection of *Agrobacterium tumefaciens* and Revised Descriptions for the Genus *Agrobacterium* and for *Agrobacterium radiobacter* and *Agrobacterium rhizogenes*. International Journal of Systematic Bacteriology. 43: 694-702.
 - Saxon, E. B., Jackson, R. W., Bhumbra, S., Smith, T., Sockett, R. E. 2014. *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 guards against *Pseudomonas tolaasii* brown-blotch lesions on the surface of post-harvest *Agaricus bisporus* supermarket mushrooms. BMC Microbiology. 14: 163.
 - Sbrana, C., Agnolucci, M., Bedini, S., Lepera, A., Toffanin, A., Giovannetti, M., Nuti, M. P. 2002. Diversity of culturable bacterial populations associated to *Tuber borchii* ectomycorrhizas and their activity on *T. borchii* mycelial growth. FEMS Microbiology Letters. 211: 195-201.
 - Segers, P., Vancanneyt, M., Pot, B., Torck, U., Hoste, B., Dewettinck, D., Falsen, E., Kersters, K., De Vos, P. 1994. Classification of *Pseudomonas diminuta* Leifson and Hugh 1954 and *Pseudomonas vesicularis* Büsing, Döll, and Freytag 1953 in *Brevundimonas* gen. nov. as *Brevundimonas diminuta* comb. nov. and *Brevundimonas vesicularis* comb. nov., Respectively. International Journal of Systematic Bacteriology. 44: 499-510.
 - Sessitsch, A., Coenye, T., Sturz, A. V., Vandamme, P., Ait Barka, E., Salles, J. F., Van Elsas, J. D., Faure, D., Reiter, B., Glick, B. R., Wang-Pruski, G., Nowak, J. 2005. *Burkholderia phytofirmans* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with plant-beneficial properties. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 55: 1187-1192.
 - Shannon, C. E., Weaver, W. 1963. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana.

- Splivallo, R., Deveau, A., Valdez, N., Kirchhoff, N., Frey-Klett, P. and Karlovsky, P. 2014. Bacteria associated with truffle-fruited bodies contribute to truffle aroma. *Environmental Microbiology*. 1-9.
- Suzuki, Y., Nagata, A., Ono, Y., Yamada, T. 1988. Complete Nucleotide Sequence of the 16S rRNA Gene of *Mycobacterium bovis* BCG. *Journal of Bacteriology*. 170: 2886-2889.
- Zagriadskaia, Y. A., Lysak, L. V., Sidorova, I. I., Aleksandrova, A. V., Voronina, E. Y. 2013. Bacterial Complexes of the Fruiting Bodies and Hyphosphere of Certain Basidiomycetes. *Biology Bulletin*. 40: 358-364.
- Zhang, D.-C., Redzik, M., Schinner, F., Margesin, R. 2011. *Glaciimonas immobilis* gen. nov., sp. nov., a member of the family *Oxalobacteraceae* isolated from alpine glacier cryoconite. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 61: 2186-2190.
- Takeuchi, M., Yokota, A. 1992. Proposals of *Sphingobacterium faecium* sp. nov., *Sphingobacterium piscium* sp. nov., *Sphingobacterium heparinum* comb. nov., *Sphingobacterium thalpopophilum* comb. nov. and two Genospecies of the Genus *Sphingobacterium*, and Synonymy of *Flavobacterium yabuuchiae* and *Sphingobacterium spiritivorum*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 38: 465-482.
- Takeuchi, M., Hamana, K., Hiraishi, A. 2001. Proposal of the genus *Sphingomonas sensu stricto* and three new genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, on the basis of phylogenetic and chemotaxonomic analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 51: 1405-1417.
- Tani, A., Akita, M., Murase, H., Kimbara, K. 2011. Culturable bacteria in hydroponic cultures of moss *Racomitrium japonicum* and their potential as biofertilizers of moss production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 112: 32-39.
- Tsukamoto, T., Murata, H., Shirata, A. 2002. Identification of Non-Pseudomonad Bacteria from Fruit Bodies of Wild Agaricales Fungi That Detoxify Tolaasin Produced by *Pseudomonas tolaasii*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66: 2201-2208.
- Vandamme, P., Bernardet, J.-F., Segers, P., Kersters, K., Holmes, B. 1994. New Perspectives in the Classification of the Flavobacteria: Description of

- Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. Rev. International Journal of Systematic Bacteriology. 44: 827-831.
- Vandamme, P., Opelt, K., Knöchel, N., Berg, C., Schönmann, S., De Brandt, E., Eberl, L., Falsen, E., Berg, G. 2007. *Burkholderia bryophila* sp. nov. and *Burkholderia megapolitana* sp. nov., moss-associated species with antifungal and plant-growth-promoting properties. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 57: 2228-2235.
 - Warmink, J. A., Nazir, R., Elsas, J. D. 2009. Universal and species-specific bacterial „fungiphiles” in the mycospheres of different basidiomycetous fungi. Environmental Microbiology. 11: 300-312.
 - Vaz-Moreira, I., Egas, C., Nunes, O. C., Manaia, C. M. 2011. Culture-dependent and culture-independent diversity surveys target different bacteria: a case study in a freshwater sample. Antonie van Leeuwenhoek. 100: 245-257.
 - Verhille, S., Baida, N., Dabboussi, F., Hamze, M., Izard, D., Leclerc, H. 1999. *Pseudomonas gessardii*, sp. nov. and *Pseudomonas migulae* sp. nov., two new species isolated from natural mineral waters. International Journal of Systematic Bacteriology. 49: 1559-1572.
 - Viallard, V., Poirier, I., Cournoyer, B., Haurat, J., Wiebkin, S., Ophel-Keller, K., Balandreau, J. 1998. *Burkholderia graminis* sp. nov., a rhizopheric *Burkholderia* species, and reassessment of [*Pseudomonas*] *phenazinium*, [*Pseudomonas*] *pyrocinia* and [*Pseudomonas*] *glathiei* as *Burkholderia*. International Journal of Systematic Bacteriology. 48: 549-563.
 - Vicente, C. S. L., Nascimento, F., Espada, M., Barbosa, P., Mota, M., Glick, B. R., Oliveira, S. 2012. Characterization of Bacteria Associated with Pinewood Nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. Plos One. 7: 1-8.
 - Wolf, A., Fritze, A., Hagemann, M., Berg, G. 2002. *Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal properties. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 52: 1937-1944.
 - Yamada, Y., Yukphan, P., Vu, H. T. L., Muramatsu, Y., Ochaikul, D., Tanasupawat, S., Nakagawa, Y. 2012. Description of *Komagataeibacter* gen. nov., with proposals of new combinations (Acetobacteraceae). J. Gen. Appl. Microbiol. 58: 397-404.

- Yara, R., Maccheroni, W., Horii, J., Azevedo, J. L. 2006. A bacterium belonging to the *Burkholderia cepacia* complex associated with *Pleurotus ostreatus*. Journal of Microbiology. 44: 263-268.
- Yashiro, E., Spear, R. N., McManus, P. S. 2011. Culture-dependent and culture-independent assessment of bacteria in the apple phyllosphere. Journal of Applied Microbiology. 110: 1284-1296.
- Yumoto, I., Kusano, T., Shingyo, T., Nodasaka, Y., Matsuyama, H., Okuyama, H. 2001. Assignment of *Pseudomonas* sp. strain E-3 to *Pseudomonas psychrophila* sp. nov., a new facultatively psychrophilic bacterium. Extremophiles. 5: 343-349.

Raamatud:

- Boddy, L., Frankland, J. C., van West, P. 2008. Ecology of Saprotrophic Basidiomycetes. – In: de Boer, W., van der Wal, A. Interaction between saprotrophic basidiomycetes and bacteria. British Mycological Society Symposia Series, Manchester, pp. 143-153.
- Boone, D. R., Castenholz, R. W., Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg N. R. ja Staley J. T. 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2, Part 3. Springer. US. pp. 325-340.
- Paal, J. 1997. Eesti taimkatte kasvukohatüüpide klassifikatsioon. – Keskkonnaministeeriumi Info- ja Teabekeskus, Tallinn.

Internetileheküljed:

- ABIS ENCYCLOPEDIA. [<http://www.tgw1916.net>]. 21. märts 2015
- ATCC. [www.atcc.org/~ps/BAA-473.ashx]. 25. märts 2015
- Encyclopaedia Britannica. [<http://www.britannica.com>]. 10. mai 2015
- Hardy Diagnostics. [<https://catalog.hardydiagnostics.com>]. 10. mai 2015
- MicrobeWiki. [<https://microbewiki.kenyon.edu>]. 09. märts 2015
- ModMedMicrobes. [<https://modmedmicrobes.wikispaces.com>]. 24. märts 2015
- NCBI. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>]. 24. märts 2015
- theLabRat.com. [<http://www.thelabrat.com>]. 22. märts 2015
- University of Windsor.
[<http://web2.uwindsor.ca/courses/biology/fackrell/Microbes/5200.htm>]. 22. märts 2015
- Wikipedia. [<http://en.wikipedia.org>]. 09. märts 2015

Lisad

Lisa 1. Kultuurist isoleeritud bakterite omadused ja ökoloogia

Bakter	Hingamisviis	Raku kuju	Gram-reaktiivsus	Liikuvus	Optimaalne pH	Optimaalne kasvu-temperatuur	Ökoloogia	Kasutatud allikad
<i>Rahnella aquatilis</i>	Fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+		30 - 37°C	Tavaline mullas ja vees ning taimede juurenoodulites võib see liik siduda lämmastikku. Selle perekonna esindajaid on leitud ka taimede seest, nematoodidega seotult ning nad on võimelised moodustama biofilmi. Sellele liigile lähedane tüvi on liigi <i>Sarcodon asparatus</i> haigustekitaja, toodab rikkalikult kapslilima.	Vicente jt 2012, Li jt 2013, Peng jt 2013, Harrell jt 1989, Lee jt 2007, (http://www.tgw1916.net/Enterobacteria/Rahnella.html)
<i>Rouxiella chamberiensis</i> ¹	Aeroob või fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	-		30°C	Isoleeritud lootekotist.	Le Fleche-Mateos jt 2015
<i>Collimonas pratensis</i>	Aeroob	Pulgad	-	+	6.5	20-30 °C	Selle perekonna esindajad on võimelised kasvama elavatel seenehüüfidel, on mükofaagsed. Konkreetset liiki on isoleeritud poollooduslike rohumaade ja nõmmede mullast.	Höppener-Ogawa jt 2008, De Boer jt 2004, Zhang jt 2011
<i>Rhizobium rhizogenes</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	+	6-7	25-28°C	Enamasti leitud mullast ja liblikõieliste juurenoodulitest ning pajuude taimede	Murugesan jt 2010, Sawada jt 1993, Barbieri jt 2007

							juurekarvadest, tekitab taime juurtel tuumoreid. Trühvlitest on tuvastatud seda perekonda.	
<i>Enterobacter ludwigii</i> ²	Aeroob või fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+			Looduses laialt levinud.	Hoffmann jt 2005, Hormaeche jt 1960
<i>Variovorax paradoxus</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		30°C	Leitud mullast, veest ja endofüüdina taimedest, näiteks kartulist ja tomati lehtedest. Sageli leitud saastunud mullast, võimeline lagundama mitmeid toksilisi ja komplekseid keemilisi ühendeid. Seda perekonda on isoleeritud ka seente viljakehadest, kus ta võib omastada kaadmiumit.	Hryniewicz jt 2015, Satola jt 2013, Han jt 2013, Carbajal-Rodriguez jt 2011
<i>Luteibacter rhizovicius</i>	Aeroob	Pulgad	-	+	6-9	30°C	Isoleeritud odra (<i>Hordeum vulgare</i>) risosfäärist näiteks.	Johansen jt 2005
<i>Ewingella americana</i>	Fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+		37°C	Isoleeritud kultiveeritavatest seentest, nagu <i>Agaricus bisporus</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> ja <i>Lentinula edodes</i> . Seenel <i>Agaricus bisporus</i> põhjustab mädanikku. Isoleeritud ka loomadest ja taimedest ning näiteks vaakumpakendatud lihast.	Lee jt 2009a, Reyes jt 2004, (http://web2.uwindsor.ca/courses/biology/fackrell/Microbes/5200.htm)
<i>Burkholderia sordidicola</i>	Aeroob	Pulgad	-	-		30°C	Isoleeritud taimeperekonna <i>Lespedeza</i> juurenoodulitest. Algselt isoleeritud valgemädanikku tekitava seene	Palaniappan jt 2010, Lim jt 2003

							<i>Phanerochaete sordida</i> seest. Võimelised lagundama madalmolekulaarseid orgaanilisi komponente, kaasa arvatud aromaatseid ühendeid. Üldiselt on selle perekonna liigid seotud enamasti mulla, vee ja taimede risosfääriga.	
<i>Burkholderia phytodimans</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		30°C	Leitud mitmete taimede risosfäärist ja võib esineda ka endofüüdina, näiteks kartulil, tomatil ja viinamarjadel. Võib olla taimepatogeenide suhtes antagonistlik. Isoleeritud ka pindsteriliseeritud sibula juurtest, mis olid nakatunud arbuskulaarse mükoriisaseenega <i>Glomus vesiculiferum</i> .	Sessitsch jt 2005
<i>Burkholderia dilworthii</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	+	5-8	28°C	Isoleeritud taime <i>Lebeckia ambigua</i> juurenoodulitest.	De Meyer jt 2014
<i>Burkholderia phenazinum</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		30°C	Isoleeritud mullast.	Viallard jt 1998, Coenye jt 2001 (http://www.thelabrat.com/protocols/Bacterialspecies/Burkholderiaphenazinum.shtml), (https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Burkholderia)
<i>Burkholderia caledonica</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	+		30°C	Isoleeritud risosfäärist.	Coenye jt 2001, (http://www.thelabrat.co

								m/protocols/Bacterialspecies/Burkholderiacealedonica.shtml)
<i>Burkholderia cepacia</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		30°C	Algselt isoleeritud sibulast. Võib olla antagonistlik mitmete mullast pärinevate taimepatogeenide suhtes. Võib põhjustada ka inimestel infektsioone. Leitud ka austerserviku (<i>Pleurotus ostreatus</i>) mükosfäärist	(http://www.thelabrat.com/protocols/Bacterialspecies/Burkholderiacepacia.shtml), (https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Burkholderia_cepacia_complex), Yara jt 2006
<i>Pseudomonas koreensis</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	+		25°C	Leitud sambla vedelkultuurist ja on seal võmelised siduma lämmastikku. Tähelestatud ka antifungiaalset aktiivsust.	Tani jt 2011, Kwon jt 2003
<i>Pseudomonas brenneri</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		25°C	Leitud naturaalsest mineraalveest.	Baida jt 2001, Reddy jt 2004
<i>Pseudomonas veronii</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		30°C	Isoleeritud naturaalsest mineraalveest.	Elomari jt 1996
<i>Pseudomonas fragi</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		5-15°C	Arktilisest ookeanist isoleeritud. Tuvastatud ka seotuna <i>Pinus sylvestris</i> – <i>Suillus luteus</i> vahel moodustunud mükoriisaga	(http://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_fragi) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/401555335?report=genbank&log\$=nucldtop&blast_rank=5&RID=H24UEPP2016), Bending jt 2002
<i>Pseudomonas poae</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		21°C	Lumest on leitud seda liiki ja heintaimede fülloosfäärist.	Hill jt 2014, Behrendt jt 2003
<i>Pseudomonas</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		30°C	Isoleeritud mineraalveest.	Verhille jt 1999

<i>gessardii</i> ²								
<i>Pseudomonas psychrophila</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	+		25°C (15°C)	Isoleeritud reoveega töödeldud taimedest, võib lagundada sulfametoksasooli.	Yumoto jt 2001, Jiang jt 2012
<i>Pseudomonas trivialis</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	+		21°C	Leitud heintaimede fülloosfäärist. Võib olla taimede patogeen.	Behrendt jt 2003
<i>Pseudomonas lurida</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	+		21°C	Leitud heintaimede fülloosfäärist.	Behrendt jt 2007
<i>Pseudomonas tolaasii</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		25°C	Mullabakter, põhjustab mitmetel kultiveeritavatel seentel pruunplekkaigust, tootes tolasiini. Suudab elada toitainevaeses keskkonnas.	Saxon jt 2014,
<i>Serratia liquefaciens</i> ²	Fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+		25°C	Koloniseerivad peamiselt mulda, vett ja taimi. Kõige tavalisem taimede risosfääris. Sageli toodavad antifungiaalseid ühendeid ja kitinaasi.	(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Serratia_liquefaciens), (https://modmedmicrobes.wikispaces.com/Serratia+liquefaciens+number+8)
<i>Enterobacter amnigenus</i> ²	Fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+		30°C	Leitud veest ja mullast.	Izard jt 1981, (http://www.thelabrat.com/restriction/sources/Enterobacteramnigenus.shtml)
<i>Serratia fonticola</i> ²	Fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+		37°C	Isoleeritud veest ja mullast.	Gavini jt 1979, (http://www.thelabrat.com/restriction/sources/Serratiafonticola.shtml)
<i>Sphingobacterium faecium</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	-		37°C	Isoleeritud fekaalidest. Sugukonna <i>Sphingobacteriaceae</i> esindajaid on varem tuvastatud trühvlist	Takeuchi jt 1992, Barbieri jt 2007

							<i>Tuber magnatum.</i>	
<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> ¹	Aeroob	Pulgad	-	+		30°C	Isoleeritud näiteks kartuli ja rapsi risosfäärist, tuvastatud on ka endofüütset kolonisatsiooni ning see bakter omab antagonistlikku aktiivsust taimpatogeensete seente suhtes.	Wolf jt 2002, (www.atcc.org/~ps/BAA-473.ashx)
<i>Serratia proteamaculans</i>	Fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+		20-30°C	Taimepatogeen ja isoleeritud näiteks ka mereveest. Selle liigiga sarnaseid baktereid on isoleeritud trühvlist <i>Tuber magnatum</i> .	Grimont jt 1978, Pesciaroli jt 2012, Barbieri jt 2007
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	Fakultatiivne anaeroob	Kokid	+	-		35-37°C	Isoleeritud nii inimeste, loomade, kui ka toiduga seotud proovidest. Samas ka stratosfääri õhu proovidest ja õunapuu lehtedest. Toodab beeta-toksiini. Seda liiki on isoleeritud ka trühvlitega seoses.	Chesneau jt 1993, (http://www.tgw1916.net/Staphylococcus/pasteurii.html), Barbieri jt 2007
<i>Pseudomonas denitrificans</i> ²	Fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+			Leitud aiamullast. Sünteesib vitamiini B12 ja on võimeline denitrifitseerima.	Lago and Demain 1969, (http://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas denitrificans)
<i>Microbacterium pumilum</i> ²	Aeroob	Pulgad	+	-	7-10	17-32°C	Putuka <i>Holotrichia parallela</i> sisikonnast tuvastatud tsellulolüütiline bakter. Algselt leitud mullast. Perekonda <i>Microbacterium</i> on leitud trühvlist.	Huang jt 2012, Kageyama jt 2006, Barbieri jt 2007

<i>Pandoraea norimbergensis</i> ¹	Aeroob	Pulgad	-	+	8.4	30-37°C	Algselt isoleeritud hapnikuga varustatud veekihist, kus ta oli võimeline väävlit oksüdeerima. Kergelt alkalifiilne. Leitud ka kliinilistest proovidest ja pulbristatud piimast.	Coenye jt 2000
<i>Aranicola sp.</i> ¹	Aeroob või fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-					
<i>Pseudomonas auricularis</i> ²	Aeroob või fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+				
<i>Sphingomonas mucosissima</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	+	7	25°C	Isoleeritud mullakoorikust. Toodab rikkalikult lima.	Reddy jt 2007
<i>Burkholderia bryophila</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	-		28°C	Tuvastatud sambla gametofüütidest, mis kasvasid toitainevaeses taimekoosluses. Omab antifungiaalset aktiivsust taimepatogeenide suhtes.	Vandamme jt 2007
<i>Burkholderia megapolitana</i> ²	Aeroob	Pulgad	-	-		28°C	Tuvastatud sambla gametofüütidest, mis kasvasid toitainevaeses taimekoosluses. Omab antifungiaalset aktiivsust taimepatogeenide suhtes.	Vandamme jt 2007
<i>Frondehabitans sucicola</i> ¹	Aeroob	Pulgad	+	+		30-40°C	Isoleeritud vahtra <i>Acer mono</i> mahlast.	Kim jt 2013
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Fakultatiivne anaeroob	Kokid	+	-		26-37°C	Isoleeritud inimeste ja loomade nahalt. Leitud ka kääritatud tubaka lehtedest.	(http://www.tgw1916.net/Staphylococcus/epidermidis.html)
<i>Pseudochrobactrum kiredjianiae</i> ¹	Aeroob	Pulgad	-	-		25-30°C	Isoleeritud proovidest, mis olid pärit mereande töötlevast tehasest.	Kämpfer jt 2007

<i>Burkholderia fungorum</i>	Aeroob	Pulgad	-	+		30°C	Isoleeritud seentest, loomadest ja inimeste kliinilistest proovidest. Paljudel juhtudel tuvastatud valgemädanikku põhjustavast seenest <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , kellega bakter elab sümbiootilises suhtes, lagundades aromaatsaid ühendeid, mis vabanevad ligniini lagundamisel.	Coenye jt 2001, (http://www.thelabrat.com/protocols/Bacterialspecies/Burkholderiafungorum.shtml)
<i>Dyella marensis</i> ¹	Aeroob	Pulgad	-	+	6.1-9.1	30-37°C	Isoleeritud mullast. Tuvastatud ka <i>Lepedeza</i> sp. juurenoodulitest.	Lee and Lee 2009b, Palaniappan jt 2010
<i>Flavobacterium</i> sp.	Aeroob	Pulgad	-	+			Laialt levinud magevees ja mullas. Sugukonda <i>Flavobacteriaceae</i> on tuvastatud varasemalt trühvli viljakehast.	(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Flavobacterium), Barbieri jt 2005

¹ Bakteriperekonnad, mida varem ei ole seentega seoses tuvastatud.

² Bakteriliigid, mida varem ei ole seentega seoses tuvastatud.

Lisa 2. Mass-sekvneerimisel tuvastatud bakterite omadused ja ökoloogia

Bakteriperekond	Hingamisviis	Raku kuju	Gram-reaktiivsus	Liikuvus	Sobiv pH	Sobiv kasvu-temperatuur	Ökoloogia	Kasutatud allikad
<i>Acinetobacter</i>	Range aeroob	Pulgad	-	-			Leitud nii veest, kui mullast. Suudavad kasutada süsinikuallikana suurt hulka erinevaid orgaanilisi materjale	(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Acinetobacter)
<i>Alkalibacterium</i> ¹	Fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	+	9.0-9.4	27-32°C	Algselt isoleeritud oliivide pesuveest.	Ntougias and Russell 2001
<i>Anaerococcus</i> ¹	Ranged anaeroobid	Kokid	+	-			Sahharolüütised.	Ezaki jt 2001
<i>Bacteroides</i>	Anaeroob	Pulgad	-	+/-			Sageli inimese soolestikus kasulike sümbiontidena. Paljud on sahharolüütised, lagundavad keerulisi polüsahhariide. Mõningad tõendid on selle kohta, et seda perekonda on tuvastatud ka seente mükorisosfäärist.	(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacteroides), Bonfante and Anca 2009
<i>Brachybacterium</i> ¹	Aeroob, fakultatiivne anaeroob	Pulgad/ Kokid	+	-		25-30°C	Leitud kodulindude sügavallapanust.	Collins jt 1988
<i>Corynebacterium</i>	Aeroob, Fakultatiivne anaeroob	Kokid	+	-			Leitud mullast, veest ja verest. Nõudlikud organismid, kasvavad aeglaselt ka rikkal söötmel. Leitud kandseente viljakehadega seotult.	(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Corynebacterium), Zagriadskaia jt 2013
<i>Granulicella</i> ¹	Ranged aeroobid	Pulgad	-	-	3,8-4,5	15-22°C	Isoleeritud happeliste turbarabade turbast. Võimelised lagundama pektiini, ksülaani, laminariini, lihheni	Pankratov jt 2010

							ja tärklis. Atsidofiilid.	
<i>Chryseobacterium</i>	Aeroobid	Pulgad	-	-		30°C	Vabalt elavad või parasiitsed. Sageli tugev proteolüütiline aktiivsus. Selle perekonna baktereid on tuvastatud trühvliitest.	Vandamme jt 1994, Barbieri jt 2005, 2007
<i>Brevundimonas</i> ¹	Aeroobid	Pulgad	-	+		30°C	Vajab mitmeid spetsiifilisi kasvufaktoreid.	Segers jt 1994
<i>Klebsiella</i>	Fakultatiivsed anaeroobid	Pulgad	-	-			Leidub mullas, vees ja taimedel. Mõned liigid on ka lämmastikufikseerimisvõimega. Leitud kandseente viljakehadega seotult.	(http://www.britannica.com/EBchecked/topic/319927/Klebsiella), Zagriadsakaia jt 2013
<i>Methylobacterium</i>	Ranged aeroobid	Pulgad	-	-			Enamasti mullas, lehtedel ja teistes taime osades. Leitud endosümbiiondina männi (<i>Pinus sylvestris</i>) pungarakkudes. Vähemalt üks tüvi on võimeline ka lämmastikku fikseerima.	(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Methylobacterium)
<i>Propionibacterium</i>	Anaeroobid	Pulgad	+	-			Takistavad pärmide ja teiste mikroobide tegevust, kes põhjustavad piimatoodete riknemist. Aeglase kasvuga sageli. Sugukonda <i>Propionobacteriaceae</i> on leitud seene <i>Tuber magnatum</i> viljakehadest.	(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Propionibacterium), Barbieri jt 2007
<i>Rothia</i> ¹	Aeroobid	Kokid	+	-			Isoleeritud mullast, õhust ja kliinilistest proovidest. Võivad moodustada filamentseid elemente.	Chou jt 2008, Georg and Brown 1967

<i>Rhodanobacter</i> ¹	Ranged aeroobid	Pulgad	-	-		30°C	Lagundab pestitsiidi lindaan.	Nalin jt 1999
<i>Tatumella</i> ¹	Fakultatiivne anaeroob	Pulgad	-	-		30°C	Enamasti isoleeritud kliinilistest proovidest.	Hollis jt 1981
<i>Janthinobacter</i>	Aeroob	Pulgad	-	+			Leitud tüüpiliselt nii mullast, kui veest. Kaks liiki on selles perekonnas, üks nendest põhjustab seenel <i>Agaricus bitorus</i> pehmemädaniku teket.	Lincoln jt 1999, Kämpfer jt 2008, (http://en.wikipedia.org/wiki/Janthinobacterium)
<i>Komagataeibacter</i> ¹	Aeroob	Pulgad	-	-			Oksüdeerivad atsetaati ja laktaati.	Yamada jt 2012
<i>Mucilaginibacter</i> ¹	Fakultatiivne aeroob	Pulgad	-	-	6.0-6.5	20°C	Isoleeritud turbarabade turbast. Sageli võimelised lagundama pektiini, ksülaani, laminariini ja mõningaid teisi polüsahhariide.	Pankratov jt 2007
<i>Novosphingobium</i> ¹	Ranged aeroobid	Pulgad	-	+/-			Isoleeritud mullast, taimejuurtest, veest ja kliinilistest proovidest.	Takeuchi jt 2001
<i>Mycobacterium</i>	Aeroobid või fakultatiivsed anaeroobid	Pulgad	+	+			Mullabakterid, vähemalt osad liigid on väga aeglase kasvuga. Leitud kandseente viljakehadega seoses.	(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Mycobacterium), Martinez jt 1999, Zagriadskaia jt 2013
<i>Shewanella</i> ¹	Fakultatiivsed anaeroobid	Pulgad	-	+			Peamiselt merebakterid, aga leitud ka mageveest. Osad selle perekonna esindajad on võimelised redutseerima metalle, näiteks uraani, mangaani ja vanaadiumit.	(http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Shewanella_putrefaciens)
<i>Streptococcus</i> ¹	Fakultatiivsed	Kokid	+	-			Osa loomade normaalsest	(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Streptococcus)

	anaeroobid, mõned ka ranged anaeroobid						mikrofloorast.	enyon.edu/index.php/Streptococcus)
<i>Haemophilus</i> ¹	Aeroobid, fakultatiivsed anaeroobid	Pulgad	-	-		30°C	Parasiitsed. Võivad kääritada erinevaid suhkruid.	(https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/Haemophilus.htm)

¹Bakteriperekonnad, mida varem ei ole seentega seoses tuvastatud.

Lisa 3. Mass-sekveneermise proovid

Proovi number	Seeneliik	Kasvukohatüüp	Ala	Viljakehade arv
B1	<i>Lactarius rufus</i>	Karusambla	K19	3
B2	<i>Lactarius rufus</i>	Mustika	K21	3
B3	<i>Lactarius rufus</i>	Sambliku	K17	3
B4	<i>Suillus variegatus</i>	Karusambla	K19	2
B5	<i>Suillus variegatus</i>	Mustika	K21	2
B6	<i>Suillus variegatus</i>	Sambliku	K17	3
B7	<i>Amanita fulva</i>	Karusambla	K19	3
B8	<i>Amanita fulva</i>	Mustika	K21	3
B9	<i>Lactarius rufus</i>	Karusambla	M33	3
B10	<i>Lactarius rufus</i>	Mustika	M41	3
B11	<i>Lactarius rufus</i>	Sambliku	M13	3
B12	<i>Lactarius quieticolor</i>	Karusambla	A72	3
B13	<i>Lactarius rufus</i>	Mustika	A61	3
B14	<i>Lactarius rufus</i>	Sambliku	A39	3
B15	<i>Suillus variegatus</i>	Karusambla	A72	3
B16	<i>Suillus variegatus</i>	Mustika	A61	3
B17	<i>Suillus bovinus</i>	Sambliku	A39	3
B18	<i>Amanita fulva</i>	Karusambla	A72	3
B19	<i>Suillus bovinus</i>	Sambliku	M13	3
B20	<i>Amanita fulva</i>	Mustika	M41	3
B21	<i>Russula</i> sp.	Karusambla	K19	3
B22	<i>Russula</i> sp.	Mustika	K21	3
B23	<i>Russula</i> sp.	Sambliku	K17	3
B24	<i>Russula emetica</i>	Karusambla	A72	3
B25	<i>Russula</i> sp.	Mustika	A61	3
B26	<i>Russula</i> sp.	Sambliku	A39	3
B27	<i>Russula decolorans</i>	Mustika	M41	3
B28	<i>Lactarius rufus</i> (purustamata)	Sambliku	M13	1
B29	<i>Suillus bovinus</i>	Karusambla	K19	1

Lisa 4. Mass-sekvneerimisel tuvastatud OTUde 16S rRNA geeni V4 regiooni järjestuste lähimad vasted andmebaas Silva põhjal.

OTU	Tüve number	Sarnasuprotsent	Vaste andmebaasist Silva	Sugukond	Selts
OTU_1	AM696810	99.46	Serratia sp.	Enterobacteriaceae	Enterobacteriales
OTU_2	CP001053	98.34	Burkholderia sp.	Burkholderiaceae	Burkholderiales
OTU_4	CBTL0108014662	99.39	Pseudomonas sp.	Pseudomonadaceae	Pseudomonadales
OTU_5	AY662007	100.00	Janthinobacter sp.	Oxalobacteraceae	Burkholderiales
OTU_7	EU150276	99.52	Burkholderia sp.	Burkholderiaceae	Burkholderiales
OTU_9	JF958158	99.26	Mucilaginibacter sp.	Sphingobacteriaceae	Sphingobacteriales
OTU_10	HQ532218	99.44	Pseudomonas sp.	Pseudomonadaceae	Pseudomonadales
OTU_11	JX174218	99.26	Dyella sp.	Xanthomonadaceae	Xanthomonadales
OTU_12	GU179544	99.63	Shewanella sp.	Shewanellaceae	Alteromonadales
OTU_14	FM872738	99.58	Burkholderia sp.	Burkholderiaceae	Burkholderiales
OTU_15	JQ317253	98.82	Bacteroides sp.	Bacteroidaceae	Bacteroidales
OTU_16	AJ292599	98.76	Novosphingobium sp.	Sphingomonadaceae	Sphingomonadales
OTU_18	DI169142	98.42	Komagataeibacter sp.	Acetobacteraceae	Rhodospirillales
OTU_19	AY569287	100.00	Pseudomonas sp.	Pseudomonadaceae	Pseudomonadales
OTU_20	GQ033140	100.00	Propionibacterium sp.	Propionibacteriaceae	Propionibacteriales
OTU_22	GQ052519	100.00	Streptococcus sp.	Streptococcaceae	Lactobacillales

OTU_23	AM162415	98.46	Granulicella sp.	Acidobacteriaceae	Acidobacteriales
OTU_24	GQ051006	100.00	Staphylococcus sp.	Staphylococcaceae	Bacillales
OTU_26	CANH01000046	98.65	Klebsiella sp.	Enterobacteriaceae	Enterobacteriales
OTU_28	EU150269	98.52	Burkholderia sp.	Burkholderiaceae	Burkholderiales
OTU_31	GQ054291	100.00	Acinetobacter sp.	Moraxellaceae	Pseudomonadales
OTU_32	AY622227	98.90	Methylobacterium sp.	Methylobacteriaceae	Rhizobiales
OTU_35	GQ052859	98.90	Haemophilus sp.	Pasteurellaceae	Pasteurellales
OTU_36	FM872738	96.98	Burkholderia sp.	Burkholderiaceae	Burkholderiales
OTU_38	AF024609	99.61	Tatumella sp.	Enterobacteriaceae	Enterobacteriales
OTU_39	EU246307	99.61	Alkalibacterium sp.	Carnobacteriaceae	Lactobacillales
OTU_40	CBXX010000086	96.85	Burkholderia sp.	Burkholderiaceae	Burkholderiales
OTU_42	FJ796438	99.60	Burkholderia sp.	Burkholderiaceae	Burkholderiales
OTU_44	AUWP01000025	99.60	Mycobacterium sp.	Mycobacteriaceae	Corynebacteriales
OTU_45	JX100819	98.93	Chryseobacterium sp.	Flavobacteriaceae	Flavobacteriales
OTU_46	GQ024875	99.63	Rothia sp.	Micrococcaceae	Micrococcales
OTU_47	AJ292593	98.25		Rhodospirillaceae	Rhodospirillales
OTU_51	AJ292611	97.92		Acetobacteraceae	Rhodospirillales
OTU_59	GU113038	99.16	Mucilagibacter sp.	Sphingobacteriaceae	Sphingobacteriales
OTU_60	AB074649	97.45	Pseudochrobactrum sp.	Brucellaceae	Rhizobiales

OTU_61	HQ638094	99.27	Acinetobacter sp.	Moraxellaceae	Pseudomonadales
OTU_63	FJ593847	98.18	Rhizobium sp.	Rhizobiaceae	Rhizobiales
OTU_65	EU150208	99.61	Granulicella sp.	Acidobacteriaceae	Acidobacteriales
OTU_67	GQ019360	99.26	Anaerococcus sp.	Family XI	Clostridiales
OTU_69	HQ622741	98.52	Sphingomonas sp.	Sphingomonadaceae	Sphingomonadales
OTU_70	AJ884481	99.53	Stenotrophomonas sp.	Xanthomonadaceae	Xanthomonadales
OTU_72	FM865682	98.55	Brevundimonas sp.	Caulobacteraceae	Caulobacterales
OTU_73	JQ772093	98.86	Mucilaginibacter sp.	Sphingobacteriaceae	Sphingobacteriales
OTU_78	KC134357	99.61	Brachybacterium muris	Dermabacteraceae	Micrococcales
OTU_80	GQ009083	99.62	Corynebacterium sp.	Corynebacteriaceae	Corynebacteriales
OTU_82	KC128973	99.61	Rhodanobacter sp.	Xanthomonadaceae	Xanthomonadales
OTU_89	EU071504	99.56	Variovorax sp.	Comamonadaceae	Burkholderiales
OTU_92	AB680811	98.90	Novosphingobium rosa	Sphingomonadaceae	Sphingomonadales
OTU_97	EU289447	99.28	Sphingomonas sp.	Sphingomonadaceae	Sphingomonadales
OTU_109	AJ867747	99.63	Rhodanobacter sp.	Xanthomonadaceae	Xanthomonadales
OTU_124	EU344917	99.63	Chryseobacterium sp.	Flavobacteriaceae	Flavobacteriales
OTU_131	CP001111	99.20	Stenotrophomonas maltophilia	Xanthomonadaceae	Xanthomonadales
OTU_135	AM696810	100.00	Serratia sp.	Enterobacteriaceae	Enterobacteriales

OTU_147	HQ532218	100.00	Pseudomonas sp.	Pseudomonadaceae	Pseudomonadales
OTU_155	AY693821	99.62	Pandoraea sp.	Burkholderiaceae	Burkholderiales

Lisa 5. Kultuurist isoleeritud bakterite 16S rRNA geenijärjestuste lähimad vasted erinevate andmebaaside põhjal.

Proov	Liik	Perekond	Sugukond	Vaste andmebaasist NCBI	Vaste andmebaasist GreenGenes	Vaste andmebaasist Rdp	Vaste andmebaasist Silva
10.	Ewingella americana	Ewingella	Enterobacteriaceae	Ewingella americana (99.93%)			
100.	Pseudomonas denitrificans	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas denitrificans (99.68%)			
101.	Ewingella americana	Ewingella	Enterobacteriaceae	Ewingella americana (99.64%)			
102.	Pseudomonas brenneri	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas brenneri (99.93%)			
105.	Pseudomonas poae	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas poae (99.21%)			
106.	Pseudomonas brenneri	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas brenneri (100.00%)			
107.	Staphylococcus pasteurii	Staphylococcus	Staphylococcaceae	Staphylococcus pasteurii (99.93%)			
108.	Pseudomonas gessardii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas gessardii (99.14%)			
109.	Pseudomonas auricularis ¹	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas auricularis (100.00%)	Pseudomonas fluorescens (99.93%)	Pseudomonas sp. (100%)	Pseudomonas sp. (99.79%)
11.	Pseudomonas gessardii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas gessardii (99.14%)			
110.	Pseudomonas gessardii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas gessardii (99.14%)			
111.	Staphylococcus pasteurii	Staphylococcus	Staphylococcaceae	Staphylococcus pasteurii (100.00%)			

112.	Staphylococcus pasteuri	Staphylococcus	Staphylococcaceae	phylococcus pasteuri (99.86%)			
113.	Microbacterium pumilum	Microbacterium	Microbacteriaceae	Microbacterium pumilum (98.41%)			
114.	Pandoraea norimbergensis	Pandoraea	Burkholderiaceae	Pandoraea norimbergensis (99.64%)			
115.	Pseudomonas tolaasii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas tolaasii (99.71%)			
116.	Aranicola ¹	Aranicola	Enterobacteriaceae	Serratia sp. (98.37%)/Aranicola (98.37%)	Aranicola sp. (98.43%)	Serratia sp. (94%)	Enterobacteriaceae (97.73%)
117.	Stenotrophomonas rhizophila	Stenotrophomonas	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas rhizophila (99.93%)			
119.	Pseudomonas sp.	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas sp.(97.29%)			
12.	Pseudomonas tolaasii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas tolaasii (99.79%)			
120.	Sphingomonas mucosissima	Sphingomonas	Sphingomonadaceae	Sphingomonas mucosissima (100.00%)			
121.	Serratia proteamaculans ¹	Serratia	Enterobacteriaceae	Serratia proteamaculans (99.79%)	Serratia proteamaculans (99.79%)	Serratia sp. (100%)	Serratia sp. (99.72%)
122.	Burkholderia bryophila	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia bryophila (100.00%)			
123.	Stenotrophomonas rhizophila	Stenotrophomonas	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas rhizophila (99.93%)			
124.	Rhizobium rhizoides	Agrobacterium/ Rhizobium sp. Group	Rhizobiaceae	Rhizobium rhizoides (99.89%)			
126.	Serratia liquefaciens ¹	Serratia	Enterobacteriaceae	Serratia liquefaciens (99.64%)	Serratia proteamaculans (99.57%)		Serratia sp. (99.43%)

127.	<i>Pseudomonas gessardii</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas gessardii</i> (99.14%)			
129.	<i>Pseudomonas denitrificans</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas denitrificans</i> (99.29%)			
130.	<i>Pseudochrobactrum kiredjianaie</i> ¹	<i>Pseudochrobactrum</i>	Brucellaceae	<i>Pseudochrobactrum kiredjianaie</i> (98.14%)	<i>Pseudochrobactrum kiredjianaie</i> str. (98.22%)		
131.	<i>Pseudomonas brenneri</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas brenneri</i> (99.93%)			
132.	<i>Pseudomonas denitrificans</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas denitrificans</i> (99.36%)			
133.	<i>Serratia</i> sp. ¹	<i>Serratia</i>	Enterobacteriaceae	<i>Serratia</i> sp. (99.50%)/ <i>Rahnella</i> sp. (99.36%)	<i>Rahnella</i> sp. (99.36%)/ <i>Rahnella aquatilis</i> (99.07%)	<i>Serratia</i> sp. (100%)	<i>Rahnella</i> sp. (98.72%)
135.	<i>Burkholderia xenovorans</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia xenovorans</i> (97.77%)			
136.	<i>Frondihabitsans sucicola</i>	<i>Frondihabitsans</i>	Microbacteriaceae	<i>Frondihabitsans sucicola</i> (99.42%)			
137.	<i>Burkholderia phenazinium</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia phenazinium</i> (99.50%)			
138.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus</i>	Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (100.00%)			
139.	<i>Rahnella</i> sp.	<i>Rahnella</i>	Enterobacteriaceae	<i>Rahnella</i> sp. (95.91%)			
14.	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	<i>Stenotrophomonas</i>	Xanthomonadaceae	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> (99.93%)			
140.	<i>Burkholderia phytofirmans</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia phytofirmans</i> (98.49%)			
141.	<i>Burkholderia bryophila</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia bryophila</i> (99.57%)			
142.	<i>Burkholderia phytofirmans</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia phytofirmans</i> (98.49%)			
143.	<i>Burkholderia</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Burkholderia</i>		

144.	cepacia ¹ Burkholderia cepacia ¹	Burkholderia	Burkholderiaceae	(98.71%) Burkholderia cepacia (98.92%)	cepacia (98.57%) Burkholderia cepacia (98.78%)		
145.	Burkholderia phytofirmans ¹	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytofirmans (98.49%)	Burkholderia phytofirmans (98.28%)		
147.	Burkholderia fungorum	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia fungorum (99.36%)			
148.	Serratia sp.	Serratia	Enterobacteriaceae	Serratia sp. (99.07%)			
15.	Pseudomonas psychrophila	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas psychrophila (99.93%)			
150.	Dyella marensis /Dyella koreensis ¹	Dyella	Xanthomonadaceae	Dyella marensis (99.65%),/Dyella koreensis (99.65%)	Dyella koreensis str. LNP8 (99.72%)/ Dyella marensis str. LNP9 (99.72%)	Dyella sp. (100%)	Dyella sp. (98.8%)
154.	Burkholderia caledonica	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia caledonica (98.64%)			
155.	Burkholderia bryophila	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia bryophila (99.57%)			
156.	Burkholderia phytofirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytofirmans (98.49%)			
158.	Burkholderia phytofirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytofirmans (99.35%)			
159.	Burkholderia cepacia	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia cepacia (98.85%)			
16.	Serratia sp.	Serratia	Enterobacteriaceae	Serratia sp. (96.90%)			
161.	Burkholderia cepacia	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia cepacia (99.07%)			
162.	Burkholderia megapolitana (98.28%)	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia megapolitana (98.28%)			
163.	Burkholderia	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia			

164.	phytofirmans Burkholderia cepacia	Burkholderia	Burkholderiaceae	phytofirmans (98.49%) Burkholderia cepacia (98.37%)			
165.	Pseudomonas denitrificans	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas denitrificans (99.36%)			
166.	Burkholderia cepacia	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia cepacia (98.85%)			
167.	Burkholderia sordidicola	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia sordidicola (100.00%)			
168.	Pseudomonas brenneri	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas brenneri (100.00%)			
169.	Burkholderia phytofirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytofirmans (98.49%)			
17.	Pseudomonas brenneri	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas brenneri (100.00%)			
170.	Burkholderia phytofirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytofirmans (98.49%)			
171.	Burkholderia phytofirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytofirmans (98.49%)			
172.	Burkholderia bryophila	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia bryophila (99.78%)			
18.	Sphingobacterium faecium	Sphingobacterium	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium faecium (97.63%)			
20.	Enterobacter ludwigii ¹	Enterobacter	Enterobacteriaceae	Enterobacter ludwigii (98.01%)	Enterobacter ludwigii (97.86%)/Kluyvera sp. (97.94%)	Kluyvera sp. (35%)	Enterobacter sp.(97.55%)
21.	Pseudomonas brenneri ¹	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas brenneri (99.93%)/Pseudomonas panacis (99.93%)	Pseudomonas brenneri (99.86%)	Pseudomonas sp.	
22.	Pseudomonas brenneri ¹	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas brenneri (100.00%)/Pseudomonas	Pseudomonas brenneri (100.00%)/	Pseudomonas sp.	Pseudomonas sp. (100%)

				collierea (100.00%)	Pseudomonas collierea (100.00%)	
23.	Pseudomonas brenneri	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas brenneri (99.93%)		
24.	Pseudomonas poae	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas poae (100.00%)		
25.	Serratia liquefaciens	Serratia	Enterobacteriaceae	Serratia liquefaciens (99.89%)		
26.	Rahnella aquatilis ¹	Rahnella	Enterobacteriaceae	Rahnella aquatilis (99.64%)	Rahnella (99.79%)/ Rahnella aquatilis (99.00%)	
27.	Serratia fonticola	Serratia	Enterobacteriaceae	Serratia fonticola (99.79%)		
28.	Pseudomonas brenneri	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas brenneri (99.93%)		
29.	Pseudomonas gessardii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas gessardii (99.14%)		
3.	Pseudomonas poae	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas poae (99.93%)		
31.	Pseudomonas gessardii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas gessardii (99.14%)		
32.	Pseudomonas koreensis	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas koreensis (99.79%)		
34.	Burkholderia sordidicola ¹	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia sordidicola (99.93%)/Burkholderia phenazinium (99.93%)	Burkholderia sordidicola (99.93%)	Burkholderia sp.
35.	Enterobacter amnigenus	Enterobacter	Enterobacteriaceae	Enterobacter amnigenus (98.36%)		
36.	Pseudomonas trivialis ¹	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas trivialis (99.86%)/Pseudomonas poae (99.86%)	Pseudomonas trivialis (99.86%)	Pseudomonas sp.
37.	Pseudomonas	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas lurida		

38.	<i>Pseudomonas brenneri</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	(99.79%) <i>Pseudomonas brenneri</i> (97.54%)			
4.	<i>Ewingella americana</i>	<i>Ewingella</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Ewingella americana</i> (99.93%)			
40.	<i>Pseudomonas brenneri</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas brenneri</i> (99.93%)			
41.	<i>Serratia</i> sp. ¹	<i>Serratia</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Rahnella aquatilis</i> (99.43%)/ <i>Serratia</i> sp. (99.64%)	<i>Rahnella</i> (99.29%)/ <i>Rahnella aquatilis</i> (99.36%)	<i>Serratia</i> sp.(98.3%)/ <i>Rahnella</i> sp.(97.0%)	<i>Rahnella</i> sp. (99.31%)
42.	<i>Serratia liquefaciens</i> ¹	<i>Serratia</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Serratia liquefaciens</i> (99.72%)	<i>Serratia</i> <i>proteamaculans</i> (99.64%)/ <i>Serratia</i> <i>liquefaciens</i> (99.64%)	<i>Serratia</i> sp. (100.00%)	<i>Serratia</i> sp. (99.64%)
43.	<i>Pseudomonas brenneri</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas brenneri</i> (100.00%)			
44.	<i>Ewingella</i> sp.	<i>Ewingella</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Ewingella</i> sp. (95.56%)			
45.	<i>Burkholderia phenazinum</i> ¹	<i>Burkholderia</i>	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia sordidicola</i> (99.28%)/ <i>Burkholderia</i> <i>phenazinum</i> (99.36%)	<i>Burkholderia</i> <i>phenazinum</i> (99.35%)	<i>Burkholderia</i> sp. (100%)	
47.	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Burkholderia</i>	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia cepacia</i> (98.85%)			
48.	<i>Burkholderia phenazinum</i> ¹	<i>Burkholderia</i>	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia</i> <i>phenazinum</i> (99.00%)/ <i>Burkholderia</i> <i>sediminicola</i> (99.00%)	<i>Burkholderia</i> <i>phenazinum</i> (99.00%)	<i>Burkholderia</i> sp. (100%)	
49.	<i>Rahnella aquatilis</i>	<i>Rahnella</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Rahnella aquatilis</i> (98.58%)			
5.	<i>Pseudomonas brenneri</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas brenneri</i> (100.00%)			

50.	Rahnella aquatilis	Rahnella	Enterobacteriaceae	Rahnella aquatilis (98.65%)			
51.	Rouxiella chamberiensis ¹	Rouxiella sp.	Enterobacteriaceae	Rouxiella chamberiensis (98.86%)	Rahnella aquatilis (98.36%)	Serratia sp. (94%)	
52.	Pseudomonas veronii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas veronii (99.36%)			
53.	Rouxiella chamberiensis ¹	Rouxiella	Enterobacteriaceae	Rouxiella chamberiensis (99.36%)	Rahnella aquatilis (98.29%)	Serratia sp. (93%)	Rahnella sp. (98.25%)
54.	Burkholderia phytofirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytofirmans (98.49%)			
55.	Burkholderia phytofirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytofirmans (98.49%)			
57.	Rahnella aquatilis	Rahnella	Enterobacteriaceae	Rahnella aquatilis (98.58%)			
58.	Flavobacterium sp. ¹	Flavobacterium	Flavobacteriaceae	Flavobacterium sp. (96.03%)	Flavobacterium sp. (95.79%)	Flavobacterium sp. (100%)	
59.	Rahnella aquatilis ¹	Rahnella	Enterobacteriaceae	Rahnella aquatilis (99.36%)	Rahnella sp. (99.50%)	Serratia sp. (90%)	
6.	Pseudomonas gessardii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas gessardii (99.07%)			
60.	Pseudomonas koreensis	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas koreensis (99.79%)			
61.	Burkholderia sordidicola	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia sordidicola (99.57%)			
62.	Serratia proteamaculans ¹	Serratia	Enterobacteriaceae	Serratia proteamaculans (97.79%)	Rahnella aquatilis (97.72%)	Serratia sp. (99%)	
63.	Rouxiella chamberiensis ¹	Rouxiella	Enterobacteriaceae	Rouxiella sp. (98.79%)	Rahnella aquatilis (98.29%)	Serratia sp. (97%)	
64.	Ewingella americana	Ewingella	Enterobacteriaceae	Ewingella americana (99.79%)			
65.	Rouxiella chamberiensis ¹	Rouxiella	Enterobacteriaceae	Rouxiella chamberiensis (99.36%)	Rahnella sp. (98.79%)	Serratia sp. (92%)	Rahnella sp. (98.25%)

66.	<i>Pseudomonas fragi</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas fragi</i> (99.43%)			
67.	<i>Burkholderia phytofirmans</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia phytofirmans</i> (98.49%)			
68.	<i>Ewingella americana</i>	<i>Ewingella</i>	Enterobacteriaceae	<i>Ewingella americana</i> (99.93%)			
69.	<i>Pseudomonas fragi</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas fragi</i> (99.43%)			
7.	<i>Pseudomonas poae</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas poae</i> (99.93%)			
70.	Xxx	xxx	Enterobacteriaceae				
71.	<i>Pseudomonas brenneri</i> ¹	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas brenneri</i> (100.00%)/ <i>Pseudomonas panacis</i> (100.00%)	<i>Pseudomonas brenneri</i> (99.93%)	<i>Pseudomonas</i> sp. (100%)	
72.	<i>Pseudomonas poae</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas poae</i> (99.93%)			
74.	<i>Pseudomonas koreensis</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas koreensis</i> (99.00%)			
75.	<i>Serratia</i> sp. ¹	<i>Serratia</i>	Enterobacteriaceae	<i>Serratia</i> sp. (99.57%)	<i>Rahnella aquatilis</i> (99.07%)	<i>Serratia</i> sp. (100%)	<i>Rahnella</i> sp. (98.72%)
76.	<i>Pseudomonas brenneri</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas brenneri</i> (100.00%)			
78.	<i>Pseudomonas brenneri</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas brenneri</i> (100.00%)			
79.	<i>Burkholderia phenazinium</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia phenazinium</i> (98.63%)			
8.	<i>Pseudomonas psychrophila</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas psychrophila</i> (100.00%)			
80.	<i>Burkholderia phytofirmans</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia phytofirmans</i> (98.49%)			
81.	<i>Burkholderia phytofirmans</i>	<i>Burkholderia</i>	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia phytofirmans</i> (98.49%)			

82.	Burkholderia phenazinium	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phenazinium (99.57%)			
83.	Burkholderia phenazinium	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phenazinium (99.57%)			
85.	Burkholderia caledonica	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia caledonica (98.64%)			
86.	Burkholderia phytotfirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytotfirmans (98.49%)			
87.	Burkholderia phytotfirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytotfirmans (98.49%)			
88.	Burkholderia phytotfirmans	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia phytotfirmans (98.49%)			
89.	Burkholderia dilworthii	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia dilworthii (98.78%)			
9.	Pseudomonas tolaasii	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas tolaasii (99.71%)			
90.	Luteibacter rhizovicius	Luteibacter	Xanthomonadaceae	Luteibacter rhizovicius (99.86%)			
91.	Luteibacter rhizovicius	Luteibacter	Xanthomonadaceae	Luteibacter rhizovicius (99.86%)			
92.	Burkholderia sordidicola	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia sordidicola (100%)			
93.	Dyella marensis ¹	Dyella	Xanthomonadaceae	Dyella marensis (99.72%),/Dyella korensis (99.72%)	Dyella korensis (99.72%)/ Dyella marensis (99.72%)/Dyella japonica (99.72%)	Dyella sp. (100%)	Dyella sp. (98.8%)
94.	Rhizobium rhizogenes ¹	Agrobacterium/ Rhizobium sp. Group	Rhizobiaceae	Agrobacterium rhizogenes (99.85%)	Agrobacterium rhizogenes (99.85%)	Rhizobium (100%)	Rhizobium sp. (99.78%)
95.	Collimonas	Collimonas	Oxalobacteraceae	Collimonas fungivorans	Collimonas	Collimonas sp.	Collimonas sp. (99-

	pratensis ¹			(99.57%)/Collimonas pratensis (99.71%)	fungivorans (99.57%)	(100%)	64%)
96.	Variovorax paradoxus	Variovorax	Comamonadaceae	Variovorax paradoxus (99.93%)			
97.	Pseudomonas auricularis ¹	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas auricularis (99.93%)	Pseudomonas fluorescens str. B68 (99.86%)		
98.	Staphylococcus epidermidis	Staphylococcus	Staphylococcaceae	Staphylococcus epidermidis (100.00%)			
99.	Pseudomonas denitrificans	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	Pseudomonas denitrificans (99.29%)			
140.	xxx	Burkholderia	Burkholderiaceae	Burkholderia sp. (98.48%)			

¹ Konsensuslik määrang mitme andmebaasi alusel.

Lisa 6. Proovialade mullaparametrid (Hiiesalu 2013)

Ala	Org. matter (%)	N (%)	C (%)	C:N	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	δ 15N	δ 13C	N:P	C:P	pH _{KCl}
M13	4.74	0.07	2.71	38.12	8.26	26.66	68.18	15.42	-0,44	-27,57	0,01	0,33	2.86
M33	59.45	0.8	24.24	30.16	92.57	361.95	375.69	185.68	-1,2	-28,27	0,01	0,26	2.80
M41	11.38	0.19	6.03	31.1	6.81	121.29	179.95	41.98	-0,14	-27,6	0,02	0,89	2.46
K17	2.57	0.15	4.91	34	2.06	51.24	76.91	10.72	-1,07	-27,6	0,07	2,39	2.84
K19	18.34	0.85	24.96	29.52	16.3	134.67	183.86	47.3	1,05	-27,9	0,05	1,53	3.07
K21	12.59	0.13	4.23	31.61	13.35	77.24	129.62	39.97	0,28	-27,82	0,01	0,32	3.08
A39	5.58	0.08	2.75	34.84	1.11	44.25	126.99	15.68	-1,59	-27,38	0,07	2,48	3.47
A61	12.48	0.28	9.99	35.24	10.89	176.61	230.75	38.61	1,89	-28,35	0,03	0,92	3.36
A72	20.89	0.3	9.39	31.1	1.01	171.99	221.66	48.91	1,01	-28,49	0,02	0,64	2.94

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina _____ Mari_Pent _____

(*autori nimi*)

(sünnikuupäev: _____ 22.05.1991 _____)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

_____ Bakterite_mitmekesisus__kandseente_viljakehades_ja_seda_mõjutavad_tegurid____

(*lõputöö pealkiri*)

mille juhendaja on _____ Kadri_Pöldmaa _____,

(*juhendaja nimi*)

- 1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
- 1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, _28.05.2015_(*kuupäev*)